

Показатели гемостаза у больных с гипергомоцистеинемией на гемодиализе

Харламова У.В., Ильичева О.Е.

Indicators of a hemostasis in patients with hyperhomocysteinemia on a hemodialysis

Kharlamova U.V., Ilyicheva O.Ye.

Челябинская государственная медицинская академия, г. Челябинск

© Харламова У.В., Ильичева О.Е.

Проведено обследование 89 пациентов на гемодиализе с целью изучения особенностей показателей гемостазиограммы в зависимости от уровня гомоцистеина. У больных на гемодиализе выявлена активация внутрисосудистого свертывания крови, наиболее выраженная у пациентов с гипергомоцистеинемией. Отмечено наличие взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и показателями гемостазиограммы.

Ключевые слова: гемостаз, гомоцистеин, гемодиализ.

Inspection of 89 patients on a hemodialysis for the purpose of studying of feature hemostasiogram's indicators depending on level homocysteine is spent. At patients on a hemodialysis activation of intravascular curling of the blood, the most expressed at patients with hyperhomocysteinemia is revealed. Interrelation existence between concentration of homocysteine and hemostasiogram's indicators noted.

Key words: a hemostasis, homocysteine, a hemodialysis.

УДК 616.61-008.64-08:616.61-78-07:616-005.1-08:[616.151.5:577.112.386.2]-074

Введение

У больных, получающих лечение программным гемодиализом, своевременное исследование гемостаза позволяет обнаружить нарушения, способствующие развитию тромботических осложнений со стороны артериовенозной фистулы [1]. Наряду с традиционными факторами риска активации системы свертывания, включающих нарушения липидного обмена, гипоальбуминемию, гипотензию, ранее перенесенные тромбозы, наличие эндотелиальной дисфункции, у диализных больных выделяют нетрадиционные факторы риска. Среди возможных нетрадиционных факторов риска обсуждается гипергомоцистеинемия [3]. Гомоцистеин — серосодержащая аминокислота, являющаяся промежуточным продуктом обмена аминокислот метионина и цистеина. Известно, что в терминальной стадии хронической почечной недостаточности уровень гомоцистеина в сыворотке крови повышен, а

у лиц, получающих заместительную почечную терапию, концентрация гомоцистеина может достигать очень высокого уровня [7, 9, 27]. Обсуждаются возможные патогенетические механизмы влияния гомоцистеина на состояние свертывающей системы крови: нарушение эндотелиальной функции, активация окислительного стресса, усиление тромбогенеза и коагуляции, вследствие чего гомоцистеин рассматривается как потенциальный фактор, увеличивающий риск развития тромбофилии у больных на программном гемодиализе [12, 14, 15, 24].

Цель исследования — изучить особенности показателей гемостазиограммы в зависимости от уровня гомоцистеина у больных, находящихся на лечении программным гемодиализом.

Материал и методы

Обследовано 89 больных с терминальной хронической почечной недостаточностью, получающих лечение

программным гемодиализом в отделении гемодиализа на базе городской клинической больницы № 8 г. Челябинска. Гемодиализ проводили на аппарате Fresenius с использованием бикарбонатного диализирующего раствора и полисульфоновых диализаторов F 8 и F 10 HPS. Продолжительность сеанса гемодиализа составляла 4—5 ч 3 раза в неделю. Обеспеченная доза диализа (индекс spKT/V) составляла не менее 1,3.

Уровень гомоцистеина исследовали методом иммуноферментного анализа на анализаторе Axis-sheild (Diagnostics Limited, Великобритания). Концентрация гомоцистеина 15—30 мкмоль/л рассматривалась как умеренная гипергомоцистеинемия, 30—100 мкмоль/л — средняя, более 100 мкмоль/л — тяжелая.

Расширенное гемостазиологическое исследование выполнено по общепринятым методикам на лазерном агрегометре «Биола LA» 230-2 (Россия) и полуавтоматическом коагулометре CD4 (Швейцария). Проводилось изучение агрегационной функции тромбоцитов, коагуляционного гемостаза (определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПТВ), тромбиновое время, активированное время рекальцификации (АВР), фибриноген); антикоагулянтной активности (антитромбин III), тестов активации свертывания крови (растворимые фибриномономерные комплексы (РФМК)); фактор Виллебранда. Забор крови проводился из артериальной магистрали перед проведением процедуры гемодиализа до введения низкомолекулярного гепарина.

В качестве контрольной группы были обследованы 20 здоровых добровольцев сопоставимого возраста (10 женщин и 10 мужчин, средний возраст $(43,9 \pm 15,5)$ года).

Статистическая обработка выполнена с использованием пакета статистических прикладных программ SPSS for Windows. Значимость различий для количественных данных между группами оценивалась с помощью *U*-критерия Манна—Уитни. При сравнении долей применяли *Z*-критерий. Величина связи между признаками оценивалась по значению коэффициента корреляции Спирмена *r*. Методом множественного пошагового регрессионного анализа изучалась степень влияния различных факторов на исследуемый. Крити-

ческий уровень значимости *p* при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

По результатам проведенного исследования выявлено, что средние концентрации гомоцистеина у больных на гемодиализе $(29,75 \pm 10,34)$ мкмоль/л были достоверно выше, чем у практически здоровых лиц $(6,25 \pm 1,23)$ мкмоль/л; $p = 0,001$.

При анализе распространенности и выраженности гипергомоцистеинемии у больных, получающих терапию программным гемодиализом, установлено преобладание умеренной (46 (51,7%) пациентов) и средней (33 (37,8%) пациента) степени тяжести гипергомоцистеинемии.

Изучение показателей гемостаза у больных на хронодиализе в зависимости от уровня гомоцистеина (таблица) показало достоверное увеличение концентрации фактора Виллебранда, РФМК у больных с умеренной и средней степенью гипергомоцистеинемии. Выявлена тенденция к увеличению концентрации фибриногена, агрегации тромбоцитов у пациентов со средним уровнем концентрации гомоцистеина. Отмечена тенденция к снижению показателей антитромбина III при умеренной и средней степени гипергомоцистеинемии. Зарегистрировано достоверное снижение длительности АЧТВ у больных со средним уровнем концентрации гомоцистеина.

При проведении корреляционного анализа обнаружены отрицательные взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и антитромбина III ($r = -0,38$; $p = 0,05$), тромбиновым временем ($r = -0,3$; $p = 0,04$). Вместе с тем имела положительная взаимосвязь между концентрацией гомоцистеина и агрегацией тромбоцитов ($r = 0,42$; $p = 0,05$). Отмечена отрицательная взаимосвязь между концентрацией фактора Виллебранда и АЧТВ ($r = -0,4$; $p = 0,007$), АВР ($r = -0,3$; $p = 0,05$). Выявлена положительная связь между концентрацией фактора Виллебранда и РФМК ($r = 0,33$; $p = 0,02$), ПТВ ($r = 0,31$; $p = 0,03$), концентрацией гомоцистеина ($r = 0,4$; $p = 0,04$).

Многофакторный регрессионный анализ показал независимое влияние уровня гомоцистеина на тромбиновое время ($\beta = -0,28$; $p = 0,06$). В ходе многофакторного регрессионного анализа установлено независимое

влияние на концентрацию фактора Виллебранда гомоцистеина ($\beta = 0,29$; $p = 0,03$), ПТВ ($\beta = 0,48$; $p = 0,002$), агрегации тромбоцитов ($\beta = 0,55$; $p = 0,05$).

Показатели гемостазиограммы в зависимости от уровня гомоцистеина

Показатель	Уровень гомоцистеина, мкм/л			P
	менее 15 (10 человек) (1)	15—30 (46 человек) (2)	более 30 (33 человека) (3)	
АВР, с	63,01 ± 5,96	67,20 ± 5,72	57,10 ± 9,09	$p_{1-2} = 0,06$ $p_{1-3} = 0,04$ $p_{2-3} = 0,23$
АЧТВ, с	38,48 ± 4,58	40,78 ± 11,6	35,46 ± 4,12	$p_{1-2} = 0,12$ $p_{1-3} = 0,47$ $p_{2-3} = 0,04$
ПТВ, с	16,23 ± 1,54	14,23 ± 1,34	15,88 ± 2,13	$p_{1-2} = 0,27$ $p_{1-3} = 0,32$ $p_{2-3} = 0,21$
Фибриноген, г/л	4,44 ± 1,04	4,99 ± 1,24	5,63 ± 1,25	$p_{1-2} = 0,34$ $p_{1-3} = 0,07$ $p_{2-3} = 0,24$
Тромбиновое время, с	15,29 ± 0,33	17,02 ± 0,56	16,23 ± 0,34	$p_{1-2} = 0,42$ $p_{1-3} = 0,32$ $p_{2-3} = 0,22$
Антитромбин III, %	104,02 ± 12,26	98,18 ± 8,26	88,16 ± 7,29	$p_{1-2} = 0,08$ $p_{1-3} = 0,06$ $p_{2-3} = 0,12$
РФМК, мг/дл	5,84 ± 3,05	7,29 ± 4,09	11,91 ± 4,22	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,05$ $p_{2-3} = 0,23$
Агрегация тромбоцитов, %	2,22 ± 1,29	2,61 ± 1,67	2,73 ± 1,98	$p_{1-2} = 0,23$ $p_{1-3} = 0,08$ $p_{2-3} = 0,52$
Фактор Виллебранда, %	92,34 ± 12,23	112,06 ± 21,12	130,06 ± 32,08	$p_{1-2} = 0,05$ $p_{1-3} = 0,02$ $p_{2-3} = 0,04$

Обсуждение

В ходе исследования выявлено, что уровень гомоцистеина у пациентов на гемодиализе был достоверно выше, чем у практически здоровых доноров. При этом у подавляющего числа больных, получающих почечно-заместительную терапию, отмечено преобладание умеренной и средней степени тяжести гипергомоцистеинемии. Повышение уровня гомоцистеина плазмы при дисфункции почек отражает как нарушения почечного обмена гомоцистеина, так и системные нарушения его метаболизма [7, 10].

При изучении показателей гемостаза установлено, что у больных, получающих терапию гемодиализом, несмотря на нормальные значения рутинных коагуляционных тестов, имеются признаки активации внут-

рисосудистого свертывания крови. При уремии развивается тромбофилическое состояние, вклад в которое вносят гиперфибриногенемия, гипергомоцистеинемия, снижение концентрации антитромбина III, повышение фактора Виллебранда, дислиппротеинемия [19]. Процедуры гемодиализа за счет контактной активации свертывания при взаимодействии потока крови с диализной мембраной, материалом сосудистых протезов и магистралей экстракорпорального контура усиливают тромбогенный потенциал крови [1]. Кроме того, у гемодиализных пациентов, годами получающих гепарин, отмечается истощение в эндотелиальных клетках запасов ингибитора тканевого фактора, подавляющего активность внешнего механизма свертывания крови [8].

У больных, находящихся на лечении программным гемодиализом, активация внутрисосудистого свертывания крови была наиболее выражена при среднем уровне гипергомоцистеинемии. При этом зарегистрированы тесные взаимосвязи между показателями

гемостаза и концентрацией гомоцистеина. Тромбофилическое состояние при гипергомоцистеинемии формируется вследствие сосудистых поражений из-за прямого токсического действия аминокислоты на эндотелий и косвенного влияния ее через стимуляцию пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, активации тромбоцитов, нарушение фибринолиза [5, 9].

В условиях гомоцистеинемии понижается синтез простациклина, а также усиливается рост артериальных гладкомышечных клеток [28]. Гомоцистеин способствует образованию дисульфидных производных белков, накоплению в мембранах клеток и межклеточном пространстве липопротеинов низкой и очень низкой плотности и их окислению, а также уменьшению синтеза серосодержащих гликозаминогликанов [13, 21, 23]. Окисленные липиды стимулируют экспрессию провоспалительных цитокинов, инактивируют оксид азота, являются цитотоксичными по отношению к эндотелиоциту [2].

Повреждение эндотелия, с одной стороны, способствует активации некоторых факторов гемостаза, с другой — ингибирует экспрессию тромбомодулина на поверхности клеток. Кроме того, в литературе имеются многочисленные сведения о том, что гомоцистеин повышает агрегационную способность тромбоцитов и их адгезивные свойства, нарушает функцию тканевого активатора плазминогена, блокируя его связывание с эндотелиоцитами, увеличивает сродство липопротеина (а) с фибрином, а также ингибирует функцию естественных антикоагулянтов, таких как антитромбин III и протеин С, повышая тем самым активность тромбина [11, 12, 17, 22, 26]. Кроме того, гомоцистеин стимулирует некоторые факторы свертывания — V (за счет гомоцистеининдуцированного повреждения эндотелия), X и XII [16, 20, 25].

Фактор Виллебранда может координировать образование фибрина и с помощью тромбоцитов способствовать образованию тромбов на стороне повреждения клеток эндотелия; этот гликопротеин может опосредовать начальную адгезию тромбоцитов к субэндотелию путем присоединения его к спе-

цифическим рецепторам мембран тромбоцитов [4]. В случае повреждения клетки эндотелия гомоцистеином, окисленными липопротеинами освобождение фактора Виллебранда увеличивается, что приводит к активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза [6, 18].

Выводы

1. У больных, получающих лечение программным гемодиализом, имеется активация внутрисосудистого свертывания крови, не выявляемая рутинными коагулологическими исследованиями.

2. У больных, находящихся на лечении программным гемодиализом, активация внутрисосудистого свертывания крови наиболее выражена при среднем уровне гипергомоцистеинемии.

3. По данным корреляционного анализа отмечено наличие взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и показателями гемостазиограммы: выявлены отрицательные взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и антитромбина III, тромбиновым временем; положительная взаимосвязь между концентрацией гомоцистеина и агрегацией тромбоцитов, концентрацией фактора Виллебранда.

4. В ходе многофакторного регрессионного анализа установлено независимое влияние уровня гомоцистеина на тромбиновое время, агрегацию тромбоцитов, концентрацию фактора Виллебранда.

Литература

1. Ильин А.П., Богоявленский В.Ф. Тромбофилия при гемодиализе у больных хронической почечной недостаточностью и ее фраксинопрофилактика и терапия: пособие для врачей. 2-е изд., испр. и доп. Казань, 2001. 32 с.
2. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Роль оксида азота в сердечно-сосудистой патологии: взгляд патофизиолога // Рос. кардиолог. журн. 2000. № 5. С. 55—63.
3. Мойсюк Я.Г., Беляев А.Ю., Иноземцев А.С. и др. Постоянный сосудистый доступ для гемодиализа: современные тенденции // Нефрология и диализ. 2002. Т. 4, № 1. С. 14—24.
4. Bardic R., Rugerri Z.M., Savion N. et al. Platelet aggregation on extracellular matrix: effect of a recombination GPIIb-binding fragment of von Willebrand factor // Thromb. Haemost. 1993. V. 70. P. 522—526.
5. Bennett-Richards K., Kattenhorn M., Donald A. et al. Total homocysteine levels and improve endothelial function in children with chronic renal failure? // Circulation. 2002. V. 105. P. 1810.
6. Blann A.D. Von Willebrand factor and the endothelium in vascular disease // Brit. J. Biomed. Sci. 1993. V. 50. P.

- 124—134.
7. *Bostom A., Brosnan J.T., Hall B.* Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney *in vivo* // *Atherosclerosis*. 1995. V. 116. P. 59—62.
 8. *Cella G., Vertolli U., Naso A. et al.* Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) activity in uremic patients during hemodialysis // *Thromb Res*. 1996. V. 81. P. 671—677.
 9. *Coen van Guldener.* Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering? // *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2006. V. 21, № 5. P. 1161—1166.
 10. *Friedman A.N., Bostom A.G., Selhub J. et al.* The kidney and homocysteine metabolism // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2001. V. 12. P. 2181—2189.
 11. *Genser D.* Homocysteine, vitamins, and restenosis after percutaneous coronary intervention // *Cardiovasc. Rev. Rep*. 2003. V. 24, № 5. P. 253—258.
 12. *Harpel P.C., Zhang X., Borth W.* Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis. // *J. Nutr*. 1996. V. 126, № 4. P. 1285—1289
 13. *Kanani P., Sinkey C., Browning R.* Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans // *Circulation*. 1999. V. 100. P. 1161—1168.
 14. *Lang D., Kredan M. B., Lang D., Moat S. J. et al.* Homocysteine-induced inhibition of endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta: Role for superoxide anions // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2000. V. 5. P. 257—261.
 15. *Loscalo J.* The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia // *J. Clin. Invest*. 1996. V. 98, № 1. P. 5—7.
 16. *Mayer E., Jacobsen D., Robinson K.* Homocysteine and coronary atherosclerosis // *J. Am. Coll. Cardiol*. 1996. V. 27. P. 517—527.
 17. *Piolot A., Nadler F., Perez N., Jacotot B.* L'homocysteine: ses liens avec les maladies cardiovasculaires ischémiques // *Rev. Med. Interne*. 1996. V. 17, № 1. P. 34—45.
 18. *Ruggery Z.M., Ware J., Ginsberg D.* Von Willebrand factor // *Thrombosis and Haemorrhage*. 1994. V. 67. P. 305—329.
 19. *Sagripanti A., Cupisti A., Baicchi U. et al.* Plasma parameters of the protrombotic state in chronic uremia // *Nephron*. 1993. V. 63. P. 273—278.
 20. *Stein J., McBride P.* Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease // *Arch. Intern. Med*. 1998. V. 158. P. 1301—1306.
 21. *Suliman M.E., Divino Filho J.C., Barany P. et al.* Effects of high-dose folic acid and pyridoxine on plasma and erythrocyte sulfur amino acids in hemodialysis patients // *J. Am. Soc. Nephrol*. 1999. V. 10. P. 1287—1296.
 22. *Thambyrajah J., Landray M.J., McGlynn F.J. et al.* Does folic acid decrease plasma homocysteine and improve endothelial function in patients with predialysis renal failure? // *Circulation*. 2000. V. 102. P. 871—875
 23. *Tawakol A., Forgiione M., Stuehlinger M. et al.* Homocysteine impairs coronary microvascular dilator function in humans // *JACC*. 2002. V. 40, № 6. P. 1051—1058.
 24. *Tawakol A., Omland T., Gerhard M. et al.* Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans // *Circulation*. 1997. V. 95. P. 1119—1121.
 25. *Undas A., Williams B., Butenas S. et al.* Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C // *J. Biol. Chem*. 2001. V. 276, № 6. P. 4389—4397.
 26. *Van Guldener C., Lambert J., Janssen M.J. et al.* Endothelium-dependent vasodilatation and distensibility of large arteries in chronic haemodialysis patients // *Nephrol. Dial. Transplant*. 1997. V. 12. P. 14—18
 27. *Vollset S.E., Refsum H., Ueland P.M.* Population determinants of homocysteine // *Am. J. Clin. Nutr*. 2001. V. 73. P. 499—500
 28. *Wang J., Dudman N., Wilcken D.* Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular endothelial cells // *Thromb. Haemost*. 1993. № 70. P. 1047—1052.

Поступила в редакцию 30.06.2010 г.

Утверждена к печати 22.12.2010 г.

Сведения об авторах

У.В. Харламова — канд. мед. наук, ассистент кафедры внутренних болезней и военно-полевой терапии ЧГМА (г. Челябинск).

О.Е. Ильичева — д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней и военно-полевой терапии ЧГМА (г. Челябинск).

Для корреспонденции

Харламова Ульяна Владимировна, тел. 8-912-472-3820; e-mail: top120@yandex.ru