

УДК 616.194 – 02: 615.356 – -008.64] – 07:616 – 005.1

НАРУШЕНИЯ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ ВИТАМИН-В₁₂-ДЕФИЦИТНЫХ АНЕМИЯХ

В. Г. Желобов*, А. В. Туев, А. В. Агафонов*Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь, Россия*

IMPAIRED COAGULATION HEMOSTASIS IN VITAMIN B₁₂-DEFICIENCY ANEMIAS

V. G. Zhelobov*, A. V. Tuev, A. V. Agafonov*Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russian Federation*

Цель. Выявление наличия нарушений гемостаза при витамин-В₁₂-дефицитных анемиях.

Материалы и методы. Показатели коагуляционного гемостаза, перекисного окисления липидов и вазодилатирующей функции эндотелия исследованы у 22 больных витамин-В₁₂-дефицитной анемией. Контрольные данные оценены у 25 практически здоровых лиц. Исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Результаты. Оценка параметров липидной пероксидации у пациентов с мегалобластными анемиями выявила достоверное увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) в плазме ($p=0,0041$). Одновременно с этим было отмечено значительное снижение антиоксидантной активности (АОА) как плазмы ($p=0,0004$), так и эритроцитов ($p=0,0006$). Достоверное укорочение активированного частично (парциально) тромбопластинового времени (АПТВ) и удлинение XIIa-калликреин-зависимого фибринолиза (ХЗФ) у длительно болеющих пациентов ($p=0,040$ и $p=0,023$) указывает на усугубление имеющихся нарушений в коагуляционном и фибринолитическом звеньях системы гемостаза при витамин-В₁₂-дефицитных анемиях по мере прогрессирования заболевания. Анализ полученных данных свидетельствует, что показатель, характеризующий активность свободнорадикального окисления (СРО) липидов (МДА плазмы), отрицательно связан с продолжительностью аутокоагуляционного теста (АКТ) и АПТВ ($r=-0,53$, $p=0,026$ и $r=-0,56$, $p=0,009$). АОА плазмы прямо коррелирует с продолжительностью протромбинового времени (ПТВ) ($r=0,42$, $p=0,039$).

Выводы. Гемическая гипоксия, обусловленная степенью тяжести анемии, сопровождается активацией свободнорадикального окисления липидов и развитием оксидативного стресса. Снижение антиокислительного потенциала крови и увеличение концентрации малонового диальдегида в плазме и эритроцитах приводит к нарушению функции эндотелия, развитию гипоккоагуляции, угнетению фибринолиза и появлению лабораторных признаков хронического ДВС синдрома.

Ключевые слова. Витамин-В₁₂-дефицитная анемия, гемическая гипоксия, прооксидантный стресс, дисфункция эндотелия, нарушения коагуляционного гемостаза.

Aim. To reveal the presence of hemostatic disturbances in vitamin B₁₂-deficient anemias.

Materials and methods. Coagulation hemostasis, lipid oxidation and epithelial vasodilating function indices were studied in 22 patients with vitamin B₁₂-deficient anemia. The control indices were assessed in 25 practically healthy persons. The examined group of patients and the control group were comparable by sex and age.

© Желобов В. Г., Туев А. В., Агафонов А. В., 2014

e-mail: zhelobov.vg@psma.ru

тел.: 8 (342) 219-09-05

[Желобов В. Г. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии; Туев А. В. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии; Агафонов А. В. – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии].

Results. Lipid peroxidation parameters estimated in patients with megaloblastic anemias confirmed reliable increase in plasma malonic dialdehyde (MDA) content ($p=0,0041$). Simultaneously, significant decrease in antioxidant activity (AOA) of both plasma ($p=0,00041$) and erythrocytes ($p=0,0006$) was detected. Reliable shortening of activated partially thromboplastin time (APTT) and lengthening of XIIa-kallikrein-dependent fibrinolysis (XDF) in long-ailing patients ($p=0,040$ and $p=0,023$) indicated aggravation of disturbances in coagulation and fibrinolytic components of hemostasis system in case of B₁₂-DA while the disease is progressing. Analysis of the obtained data shows that the parameter characterizing the activity of lipid (plasma.MDA) free-radical oxidation (FRO) is negatively connected with duration of autocoagulation test (ACT) and APTT ($r=0,53$, $p=0,026$ and $r=0,56$, $p=0,009$). Plasma AOA directly correlates with duration of prothrombin time (PTT) ($r=0,42$, $p=0,039$).

Conclusions. Hemic hypoxia conditioned by the degree of severity of anemia is accompanied by activation of free-radical lipid oxidation and development of oxidative stress. Decline in blood antioxidant potential and increase in malonic dialdehyde concentration in plasma and erythrocytes leads to endothelial dysfunction, development of hypocoagulation, inhibition of fibrinolysis and appearance of laboratory signs of chronic DIVE syndrome.

Key words. Vitamin B₁₂-deficiency anemia, hemic hypoxia, prooxidant stress, endothelial dysfunction, impaired coagulation hemostasis.

ВВЕДЕНИЕ

Патологические сдвиги в системе гемостаза при заболеваниях кроветворных органов чрезвычайно разнообразны по механизмам развития и клиническим проявлениям.

Механизмы нарушений в системе свертывания крови при лейкозах достаточно понятны – это способность при лейкозах продуцировать и выделять в циркуляцию большое количество тканевого тромбопластина, повреждение эндотелиального монослоя с активацией внутреннего механизма свертывания, обусловленное свободными радикалами [1, 2]. Что же касается анемических состояний, то при них причины гемостазиологических расстройств остаются недостаточно выясненными [3].

Целью настоящего исследования явилось выявление нарушений гемостаза при витамин-B₁₂-дефицитных анемиях (B₁₂-ДА).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 22 больных анемиями, обусловленными дефицитом витамина B₁₂. Диагноз верифицировался при исследовании периферической крови, цитологическом

исследовании костного мозга и оценке эффективности проводимой терапии при назначении цианкобаламина.

Возраст больных с витамин-B₁₂-дефицитной анемией составил $50,1 \pm 4,8$ г.

Анализируя половой состав исследуемых групп, можно говорить о некотором превалировании женщин (9 мужчин, 13 женщин). Причиной дефицита витамина B₁₂ у 15 человек был атрофический гипосекреторный гастрит типа А. У 7 пациентов (31,8 %) анемия явилась осложнением дифиллоботриоза.

Контрольные показатели оценены у 25 практически здоровых лиц. Исследуемые группы сопоставимы по полу и возрасту.

Всем обследуемым кроме общего анализа крови проводилась оценка липидной пероксидации. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по ТБК-тесту, который является одним из наиболее распространенных методов определения продуктов липидной пероксидации. Метод основан на способности малонового диальдегида (МДА) при высокой температуре в кислой среде реагировать с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием триметинового комплекса.

Микроциркуляторное звено системы гемостаза оценивали по количеству тромбоцитов в единице объема крови, спонтанной агрегации тромбоцитов.

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 – XIIа-калликреинзависимый 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 Hewlett Packard, США) линейным датчиком 5,5–7,5 МГц по методике Celermajer и соавт. [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели, отражающие состояние системы гемостаза при анемиях, обусловленных дефицитом витамина В₁₂, представлены в табл. 1.

Формирование В₁₂-ДА сопровождалось закономерным снижением количества тромбоцитов. Существенных нарушений агрегационных свойств тромбоцитов не выявлено, и спонтанная агрегация тромбоцитов (САТ) в группе больных мегалобластными анемиями не отличалась от таковой в группе сравнения.

Изменения при В₁₂-ДА коагуляционного звена проявлялись достоверным укорочением АПТВ ($p=0,042$) и увеличением концентрации фибриногена ($p=0,006$) по сравнению с контролем.

Достоверное удлинение времени ХЗФ при анемиях, обусловленных дефицитом витамина В₁₂ ($p=0,007$), указывает на угнетение фибринолиза при этом патогенетическом варианте заболевания.

У 5 больных были обнаружены позитивные паракоагуляционные тесты и увеличена концентрация РФМК. Это обстоятельство свидетельствует о наличии у 9 % пациентов лабораторных признаков ДВС-синдрома.

Таблица 1

Показатели гемостаза больных В₁₂-ДА ($M \pm 2m$)

Параметр	Группа сравнения, $n=25$	В ₁₂ -ДА, $n=22$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$190,8 \pm 11,5$	$86,0 \pm 6,9$, $p=0,00007$
САТ, %	$28,32 \pm 1,12$	$31,00 \pm 2,11$
АКТ ₁₀ , с	$10,31 \pm 0,20$	$10,84 \pm 0,36$
АПТВ, с	$43,37 \pm 0,39$	$41,68 \pm 0,69$, $p=0,042$
ПТВ, с	$16,42 \pm 0,18$	$17,16 \pm 0,37$
Фибриноген, г/л	$3,42 \pm 0,11$	$3,91 \pm 0,10$, $p=0,006$
ХЗФ, мин	$10,37 \pm 0,41$	$15,05 \pm 1,07$, $p=0,007$

Примечание: p – достоверность различий показателей больных с таковыми в группе сравнения.

Оценка параметров липидной пероксидации у пациентов с мегалобластными анемиями выявила достоверное увеличение содержания МДА в плазме ($p=0,0041$). Одновременно с этим обнаружено значительное снижение АОА как плазмы ($p=0,0004$), так и эритроцитов ($p=0,0006$). Оба эти обстоятельства указывают на активацию процессов липидной пероксидации на фоне угнетения антиоксидантной защиты [4].

Одним из наиболее важных факторов, оказывающих воздействие на показатели липидного спектра и липидной пероксидации, является степень тяжести анемического синдрома [5, 7].

Пациенты с V_{12} -ДА в зависимости от степени тяжести анемии были разделены на три подгруппы. Параметры липидного спектра, выявленные в настоящем исследовании у больных V_{12} -ДА, представлены в табл. 2.

Существенных гендерных и возрастных различий в данном случае обнаружено не было.

Определяющим фактором, влияющим на показатели гемостаза, оказалась продолжительность заболевания. В группе больных с продолжительностью заболевания более года количество тромбоцитов достоверно ниже этого показателя в группе обследованных с меньшим «стажем» патологического процесса ($p=0,006$).

Таблица 2

Показатели липидного спектра, параметров системы ПОЛ-АОА при V_{12} -ДА в зависимости от тяжести процесса ($M \pm 2m$)

Параметр	Практически здоровые, $n=25$	V_{12} -ДА		
		I степень, $n=7$	II степень, $n=7$	III степень, $n=8$
МДА пл., нм/мл	$0,99 \pm 0,06$	$1,25 \pm 0,14^*$	$1,29 \pm 0,13^*$	$1,56 \pm 0,24^*$
МДА эр., нм/мл	$3,56 \pm 0,18$	$5,00 \pm 0,30^*$	$5,09 \pm 0,31^*$	$4,46 \pm 0,44^*$
АОА пл., %	$55,52 \pm 2,90$	$38,67 \pm 4,98^*$	$39,44 \pm 5,15^*$	$47,21 \pm 6,50$
АОА эр., %	$59,25 \pm 2,62$	$15,56 \pm 3,42^*$	$15,86 \pm 3,40^*$	$20,58 \pm 6,51^*$

Примечание: * – достоверность различий с показателями группы сравнения.

Достоверное укорочение АПТВ и удлинение ХЗФ у длительно болеющих пациентов ($p=0,040$ и $p=0,023$ соответственно) указывает на усугубление имеющихся нарушений в коагуляционном и фибринолитическом звеньях системы гемостаза при V_{12} -ДА по мере прогрессирования заболевания [5].

Показатели вазодилатирующей функции эндотелия больных мегалобластными анемиями зависят от степени тяжести анемического процесса.

Наиболее значимые нарушения эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) выявлены при тяжелой степени витамин- V_{12} -дефицитной анемии, что проявилось приростом диаметра плечевой артерии в ответ на реактивную гиперемия всего на

$7,06 \pm 3,11$ % ($p=0,008$ по сравнению с аналогичным показателем группы здоровых).

Анализ полученных данных свидетельствует, что показатель, характеризующий активность СРО липидов (МДА плазмы), отрицательно связан с продолжительностью АКТ и АПТВ ($r=-0,53$, $p=0,026$ и $r=-0,56$, $p=0,009$). АОА плазмы прямо коррелирует с продолжительностью ПТВ ($r=0,42$, $p=0,039$). Более того, позитивные паракоагуляционные тесты и увеличение концентрации РФМК у части больных указывают на то, что изменения в системе гемостаза при V_{12} -ДА можно характеризовать как хронический ДВС-синдром. Наиболее вероятными причинами этого могут быть, кроме собственно анемии, активация липидной пероксидации, снижение антиокислительного потенциала

крови и системное поражение эндотелия свободными радикалами [4].

Математическая обработка полученной информации позволяет констатировать, что степень эндотелиальной дисфункции при V_{12} -ДА имеет позитивную достоверную связь с концентрацией гемоглобина ($r=0,84$, $p=0,003$).

Влияние свободнорадикального окисления липидов на функцию эндотелия подтверждается обнаружением негативных взаимоотношений между ЭЗВД и концентрацией МДА плазмы и эритроцитов ($r=-0,68$, $p=0,012$ и $r=-0,76$, $p=0,005$) и позитивной связью эндотелиальной дисфункции и антиоксидательного потенциалом плазмы крови ($r=0,81$, $p=0,002$).

Выводы

1. Развитие мегалобластных анемий сопровождается метаболической дезорганизацией, проявляющейся активацией липидной пероксидации со снижением антиоксидательного потенциала крови, что можно характеризовать как оксидативный стресс.

2. Выраженность прооксидантного стресса зависит от тяжести анемии.

3. Гемическая гипоксия и метаболическая дезорганизация включают «цепную реакцию», способствующую системному поражению эндотелия сосудов с нарушением его функции.

4. Системное поражение эндотелия сопровождается активацией свертывающей системы крови, активацией и/или угнетением фибринолиза.

Библиографический список

1. Желобов В. Г., Некрутенко Л. А., Зозуля Н. И. Патогенетические аспекты нарушений гемостаза при хронических лейкозах. Пермский медицинский журнал 2003; 3: 145–150.
2. Туев А. В., Некрутенко Л. А., Желобов В. Г. Метаболическая дезорганизация и эндотелиальная дисфункция при множественной миеломе. Пермский медицинский журнал 2011; 6: 90–94.
3. Копина М. Н., Гаевский Ю. Г. Гиперкоагуляционные нарушения гемостаза у больных впервые выявленной железодефицитной анемией. Вестник Новгородского государственного университета 2013; 7: 21–24.
4. Литвицкий П. Ф., Дворецкий А. И., Засна Е. А., Болевич С. Б. Свободнорадикальные процессы у больных железодефицитными анемиями. Клиническая патофизиология 2006; 1: 10–14.
5. Шишина Р. М., Пчелинцева Т. А., Савенко Т. А., Балакина Т. А., Маркова М. Л. Состояние системы гемостаза у больных апластической анемией в период развернутых клинических проявлений болезни. Клиническая лабораторная диагностика 2012; 5: 34–37.
6. Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992; 340 (8828): 1111–1115.

Материал поступил в редакцию 10.08.2014