

М. К. Бурлова-Васильєва¹, Н. К. Кравченко¹, В. С. Мельник²
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ" КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА¹
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ², КИЇВ

СТАН СИСТЕМИ ФІБРИНОЛІЗУ ХВОРИХ НА АТЕРОТРОМБОТИЧНИЙ ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ ТА КАРДІОЕМБОЛІЧНИЙ ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ НА ФОНІ МИГОТЛИВОЇ АРИТМІЇ

Для хворих на кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії характерний більш подовжений час лізису еуглобулінів та Хагеман-залежного фібринолізу відносно пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом. Виявлено підвищення рівня фібриногену та тенденцію до зниження активності плазміногену і α_2 -антиплазміну у хворих обох груп. Кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії спричиняв зменшення плазмового антигену t-РА відносно донорів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: атеротромботичний ішемічний інсульт, кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії, система фібринолізу.

ВСТУП. Миготлива аритмія є однією з найбільш поширених серцевих аритмій. Дане захворювання характеризується розвитком протромботичного стану, про що свідчить підвищення рівня F1+2 фрагмента протромбіну та D-димеру в плазмі крові [19, 21]. До інших маркерів гіперкоагуляції, виявлених у пацієнтів з миготливою аритмією, належить збільшений вміст фібриногену, фактора фон Віллебранда, розчинного Р селектину, інгібітора активаторів плазміногену 1 типу (РАІ 1) [7, 18]. Добре відомо, що миготлива аритмія є фактором ризику інсульту, артеріального тромбозу та інфаркту міокарда [9, 10, 20]. У хворих спостерігають зростання рівня розчинного тромбомодуліну, що свідчить про пошкодження ендотеліальних клітин судин. Також показано, що в пацієнтів з миготливою аритмією, які зазнали гострої серцево-судинної або цереброваскулярної події, рівень розчинного тромбомодуліну був значно вищим порівняно з хворими без таких випадків [10, 12]. Одним із найбільш значущих факторів прогресування та загострення ішемічної хвороби серця є атеросклеротичний процес. Провідне місце серцево-судинних захворювань у загальній структурі смертності примушує приділяти значну увагу впровадженню профілактичних заходів та оптимізації медичної допомоги [2]. Оскільки визначення біомаркерів є основною підставою для виявлення осіб з

© М. К. Бурлова-Васильєва, Н. К. Кравченко, В. С. Мельник, 2014.

високим ризиком серцево-судинних захворювань, а також контролю та оптимізації лікування, існує постійна потреба в нових біомаркерах, які можуть бути застосовані для діагностики. Відомо, що вітамін D і цистатин С асоційовані з розвитком серцево-судинних захворювань, але досі не були реалізовані в клініці [8, 17, 22].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У дослідженні взяли участь пацієнти з атеротромботичним ішемічним інсультом (n=66) та кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії (n=56).

Кров відбирали шляхом пункції ліктьової вени з 8 до 9 год ранку натщесерце в пробірку з розчином лимоннокислого натрію (38 г/л) в кінцевому співвідношенні 9:1. Суміш обережно перемішували. Плазму крові отримували згідно з методикою [6].

Для одержання еуглобулінової фракції плазми крові в кінчну пробірку до 0,2 мл плазми додавали 1,8 мл H₂O_d та 150 мкл оцтової кислоти 0,25 %, обережно перемішували. Інкубували протягом 30 хв при температурі 5 °С. Еуглобулінову фракцію осаджували шляхом центрифугування за 700 g протягом 15 хв і при температурі 5 °С. Осад розчиняли у 0,05 М трис-НСІ буфері, рН 7,4 [1]. Загальну фібринолітичну активність плазми крові визначали за часом лізису фібринового згустка, який утворюється після полімеризації фібрину еуглобулінової фракції, внаслідок додавання розчину СаCl₂.

Розчинні фібрин-мономерні комплекси, Хагеман-залежний фібриноліз, активність плазміногену та α_2 -антиплазміну, концентрацію фібриногену визначали з використанням тест-наборів НПО "Ренам" (Росія).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Фібриноген є одним із найсильніших маркерів для прогнозування інсульту і серцево-судинних захворювань. Крім того, він відомий як маркер гострої фази [16]. Підвищена концентрація фібриногену є діагностично і прогностично значущим маркером атеросклерозу та асоціюється з ускладненнями даної патології [13, 23]. Було показано, що розвиток атеротромботичного ішемічного інсульту супроводжувався збільшенням концентрації фібриногену в плазмі крові до $(3,14 \pm 0,54)$ г/л, тоді як кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії призводив до зростання даного показника до $(3,20 \pm 0,63)$ г/л. Тобто для хворих обох груп було характерним статистично достовірне підвищення рівня фібриногену відносно контрольованого показника $((2,4 \pm 0,082)$ г/л).

З рівнем фібриногену корелює такий показник, як розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК), які являють собою проміжні продукти трансформації фібриногену у фібрин. Рівень РФМК у плазмі крові залежить від концентрації фібриногену. РФМК належать до ранніх маркерів тромбінемії – активації внутрішньосудинного згортання крові [11, 15]. У нормі розчинні фібрин-мономерні комплекси виявляють у концентрації до $4 \cdot 10^2$ г/л. Підвищення РФМК характерне для розвитку гіперкоагуляційного синдрому, ДВЗ-синдрому, автоімунних захворювань, тромбофілії. Останнім часом для визначення РФМК в основному використовують ортофенантроліновий тест, який дозволяє провести не лише якісне, а й кількісне визначення комплексів [3, 5]. Було встановлено, що близько 25 % хворих у кожній з досліджених груп мали підвищені показники рівня РФМК, що на фоні зростання концентрації фібриногену вказувало на гіперкоагуляційний характер гемостазу. За даних обставин особливо загострюється питання щодо функціонування фібринолітичної системи, яка в нормі протидіє надлишковій активації коагуляції.

Для загальної характеристики стану системи фібринолізу хворих було обрано хронометричні тести визначення часу лізису еуглобулінової фракції плазми крові та часу Хагеман-залежного фібринолізу.

Час лізису еуглобулінів відображає загальну здатність плазми крові протидіяти тромботичній загрозі. Основними факторами, які визначають час лізису еуглобулінів, є інгібітор активаторів плазміногену 1 типу (PAI-1), плазміноген, інгібітор фібринолізу, який активується тромбіном (TAFI), протромбін, α_2 -антиплазмін. Пацієнтам із венозними тромбозами властивий гіпофібринолітичний стан, який пов'язаний з підвищеним рівнем у плазмі крові TAFI і PAI-1 [24]. Знижений фібринолітичний потенціал, який характеризується подовженням часу лізису еуглобулінів, було зареєстровано в пацієнтів з ідіопатичною венозною тромбоемболією, захворюванням периферичних артерій, гострим коронарним синдромом або ішемічним інсультом. Повідомляється, що гіпофібриноліз також збільшує ризик інфаркту міокарда в людей молодого віку. Таким чином, поточні дані вказують на те, що час лізису еуглобулінів може бути маркером як венозного, так і артеріального тромбоемболізму [26]. Відомо, що гострому інфаркту міокарда властиві порушення гіперкоагуляційного характеру, що проявляються зниженням активності Хагеман-залежного фібринолізу [4].

Показано, що розвиток обох патологічних станів супроводжувався значним подовженням часу лізису еуглобулінів та Хагеман-залежного фібринолізу, причому інсульту на фоні миготливої аритмії були притаманні показники більш загрозливого характеру (табл. 1).

Біологічно активним продуктом фібринолітичної системи є плазмін, утворення якого залежить від тканинного активатора плазміногену (t-PA) та його інгібітора – інгібітора активаторів PAI-1. Активність плазміну в кровотоці регулюється його основним інгібітором α_2 -антиплазміном [14, 25]. Тому для більш детального аналізу стану системи фібринолізу було проаналізовано всі зазначені параметри у плазмі крові хворих обох груп (табл. 2).

Проведені дослідження не виявили значних коливань антигену PAI-1, проте виявили зни-

Таблиця 1 – Показники хронометричних тестів

Тест	Донори	Атеротромботичний ішемічний інсульт	Кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії
Час лізису еуглобулінів, год	$1,5 \pm 0,5$	$7,07 \pm 0,12^*$	$8,48 \pm 0,21^*$
Час Хагеман-залежного фібринолізу, хв	7 ± 2	$19,60 \pm 1,12^*$	$24,96 \pm 1,14^*$

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – достовірні зміни відносно контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Параметри системи фібринолізу

Показник	Донори	Атеротромботичний ішемічний інсульт	Кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії
t-PA, нг/мл	10,45±1,03	13,35±1,48*	7,04±2,28*
PAI-1, нг/мл	16,46±1,35	15,26±2,84	18,7±3,29
Активність плазміногену, %	100±5	86,35±7,14*	88,32±12,79
Активність α_2 -антиплазміну, %	100±5	86,14±5,94*	82,86±12,75

ження концентрації t-PA у плазмі крові пацієнтів з інсультом на фоні миготливої аритмії.

ВИСНОВКИ. Для хворих на кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії характерний більш подовжений час

лізису еуглобулінів та Хагеман-залежного фібринолізу відносно пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом. Розвиток кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії супроводжується зниженням рівня плазмового t-PA відносно донорів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Братчик А. М. Клинические проблемы фибринолиза / А. М. Братчик. – К. : Здоров'я, 1993. – 344 с.
- Гайсенко О. В. О роли современной антитромбоцитарной терапии в профилактике атеротромбоза: место клопидогрела и его дженерических препаратов / О. В. Гайсенко // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2011. – **7**, № 1. – С. 89–93.
- Динамика показателей гемокоагуляции и фибринолиза у больных раком молочной железы в процессе лечения / Ю. В. Булавкин, Л. В. Курашвили, С. А. Ситников [и др.] // Казан. мед. журн. – 2003. – **84**, № 6. – С. 433–436.
- Окислительная модификация липидов и протеинов при осложнении коронарного атеросклероза / Ю. И. Рагино, Е. В. Садовский, А. С. Кривчун [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2012. – **2**. – С. 27–31.
- Стенокардия напряжения и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови / С. С. Паршина, А. В. Водолагин, Т. В. Головачева [и др.] // Саратов. науч.-мед. журн. – 2008. – **4**, № 3. – С. 55–59.
- Токар А. В. Сучасні методи лабораторної діагностики внутрішньовенного мікрозсідання крові: методичні рекомендації / А. В. Токар, Е. М. Макогоненко, Т. М. Платонова. – К. : Макком, 1994. – 22 с.
- Atrial fibrillation and hypercoagulability: dependent on clinical factors or/and on genetic alterations / E. Hatzinikolaou-Kotsakou, Z. Kartasis, D. Tziakas [et al.] // J. Thromb Thrombolysis. – 2003. – **16**. – P. 155–161.
- Burden: mortality, morbidity and risk factors / A. Alwan, T. Armstrong, D. Bettcher [et al.] // Global Status Report on Noncommunicable Diseases. – 2011. – P. 9–32.
- Canadian Cardiovascular Society atrial fibrillation guidelines 2010: prevention of stroke and systemic thromboembolism in atrial fibrillation and flutter / J. A. Cairns, S. Connolly, S. McMurry [et al.] // Can. J. Cardiol. – 2011. – **27**. – P. 74–90.
- Circulating endothelial cells in atrial fibrillation with and without acute cardiovascular disease / B. Freestone, G. Y. Lip, A. Y. Chong [et al.] // Thromb Haemost. – 2005. – **94**. – P. 702–706.
- Clinical implication of plasma level of soluble fibrin monomer-fibrinogen complex in patients with abdominal aortic aneurysm / A. Hosaka, T. Miyata, H. Aramoto [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2005. – **42**, № 2. – P. 200–205.
- Clinical importance of thrombomodulin serum levels / F. Califano, T. Giovannello, P. Pantone [et al.] // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2000. – **4**. – P. 59–66.
- C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and TNF-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris / H. Koukkunen, K. Penttila, A. Kempainen [et al.] // Ann. Med. – 2001. – **33**, № 1. – P. 37–47.
- Endogenous α_2 -antiplasmin does not enhance glomerular fibrin deposition or injury in glomerulonephritis / A. R. Kitching, A. L. Turner, K-M O'Sullivan [et al.] // Journal of thrombosis and haemostasis. – 2003. – **1**. – P. 1992–1999.
- Evaluation of hypercoagulability using soluble fibrin monomer complex in sick newborns / D. Takahashi, Y. Takahashi, M. Matsui [et al.] // Pediatr. Int. – 2013. – **55**, № 2. – P. 151–156.
- Fibrinogen and cardiovascular disease: genetics and biomarkers / D. Tousoulis, N. Papageorgiou, E. Androulakis [et al.] // Blood Rev. – 2011. – **25**. – P. 239–245.
- Grandi N. C. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies / N. C. Grandi, L. P. Breitling, H. Brenner // Prev. Med. – 2010. – **51**. – P. 228–233.
- Hypofibrinolysis in atrial fibrillation / V. Roldan, F. Marin, P. Marco [et al.] // Am. Heart J. – 1998. – **136**. – P. 956–960.
- Interleukin-6, endothelial activation and thrombogenesis in chronic atrial fibrillation / V. Roldan, F. Marin, A. D. Blann [et al.] // Eur. Heart J. – 2003. – **24**. – P. 1373–1380.
- Plasmin-alpha2-antiplasmin complex in patients with atrial fibrillation. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators / W. M. Feinberg, E. Macy,

E. S. Cornell [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1999. – **82**. – P. 100–103.

21. Sadanaga T. D-dimer levels in combination with clinical risk factors can effectively predict subsequent thromboembolic events in patients with atrial fibrillation during oral anticoagulant therapy / T. Sadanaga, S. Kohsaka, S. Ogawa // *Cardiology.* – 2010. – **117**. – P. 31–36.

22. Taglieri N. Cystatin C and cardiovascular risk / N. Taglieri, W. Koenig, J. C. Kaski // *Clin. Chem.* – 2009. – **55**. – P. 1932–1943.

23. Validation of plasma fibrinogen as a marker of carotid atherosclerosis in subjects free of clinical cardiovascular disease / Paramo J. A., O. Beloqui, C. Roncal [et al.] // *Hematology.* – 2004. – **89**. – P. 1226–1231.

24. Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1 / M. E. Meltzer, T. Lisman, P. G. de Groot [et al.] // *Blood.* – 2010. – **116**. – P. 113–121.

25. Wang Jian Association between platelet activation and fibrinolysis in acute stroke patients / Jian Wang, Jianzhang Li, Qiqiang Liu. // *Neuroscience Letters.* – 2005. – **384**. – P. 305–309.

26. Zabczyk M. Thromboembolic events are associated with prolonged clot lysis time in patients with permanent atrial fibrillation / M. Zabczyk, J. Majewski, J. Lelakowski. // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2011. – **121**, 11. – P. 400–407.

М. К. Бурлова-Васильева¹, Н. К. Кравченко¹, В. С. Мельник²

НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР “ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ” КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО¹
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА², КИЕВ

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ФИБРИНОЛИЗА БОЛЬНЫХ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ И КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКИМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ НА ФОНЕ МЕРЦАТЕЛЬНОЙ АРИТМИИ

Резюме

Для больных кардиоэмболическим ишемическим инсультом на фоне мерцательной аритмии характерно более удлиненное время лизиса эуглобулинов и Хагеман-зависимого фибринолиза относительно пациентов с атеротромботическим ишемическим инсультом. Обнаружено повышение уровня фибриногена и тенденцию к снижению активности плазминогена и α_2 -антиплазмина у больных обеих групп. Кардиоэмболический ишемический инсульт на фоне мерцательной аритмии вызывал уменьшение плазменного антигена t-PA относительно доноров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атеротромботический ишемический инсульт, кардиоэмболический ишемический инсульт на фоне мерцательной аритмии, система фибринолиза.

М. К. Burlova-Vasylieva¹, N. K. Kravchenko¹, V.S. Melnyk²
EDUCATIONAL AND SCIENTIFIC CENTRE “INSTITUT OF BIOLOGY”,
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY¹
O. O. BOHOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY², KYIV

STATE OF THE FIBRINOLYTIC SYSTEM IN PATIENTS WITH ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE AND CARDIOEMBOLIC ISCHEMIC STROKE WITH ATRIAL FIBRILLATION

Summary

Patients with cardioembolic ischemic stroke and atrial fibrillation had more prolonged euglobulin lysis and Hageman-induced fibrinolysis time relative to patients with atherothrombotic ischemic stroke. The increment of fibrinogen level and the tendency towards the reduction of plasminogen and α_2 -antiplasminogen activity in both groups of patients was found. Cardioembolic ischemic stroke with atrial fibrillation caused the reduction of plasma t-PA antigen relative to donors.

KEY WORDS: atherothrombotic ischemic stroke, cardioembolic ischemic stroke with atrial fibrillation, fibrinolytic system.

Отримано 13.11.13

Адреса для листування: М. К. Бурлова-Васильєва, Навчально-науковий центр “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна, e-mail: burlova@mail.ru.