

Изменения первичного гемостаза у подростков с артериальной гипертензией

Белорусский государственный медицинский университет

Одной из ведущих причин летальности взрослого населения республики является сердечнососудистая патология. Значительное место в структуре данной патологии занимает артериальная гипертензия (АГ), протекающая зачастую в сочетании с атеросклеротическим поражением сосудов и ожирением [5]. Установлено, что почти треть всех случаев АГ среди детей и подростков переходит с ними во взрослый период жизни [2]. Известно, что АГ способствует прогрессированию атеросклеротического поражения сосудов и последующему развитию тромбогенных повреждений мозга, сердца. При этом значительная роль в генезе таких тромбогенных осложнений принадлежит нарушению системы гемостаза. В настоящее время имеются достоверные данные, полученные в ходе проспективных исследований среди взрослого населения, о роли многих составляющих гемостаза в развитии окклюзионных поражений сердечнососудистой системы [8,9,11]. Изменения системы гемостаза у детей и подростков, имеющих АГ, ожирение, нарушения липидного обмена на ранних этапах развития, исследованы недостаточно. Это обусловлено объективными трудностями, а именно: отсутствием клинических проявлений нарушений гемостаза у детей с АГ, наступлением отдалённых тромбогенных последствий во взрослом состоянии и пожилом возрасте. Однако, имеющиеся единичные зарубежные публикации свидетельствуют о наличии лабораторных признаков нарушений первичного, сосудисто-тромбоцитарного гемостаза уже в школьном возрасте, прежде всего среди лиц с АГ. Dockrell M. et al. [7] обследовали группу молодых людей с различной предрасположенностью к гипертонической болезни и показали наличие наследственной предрасположенности к повышению агрегационных свойств тромбоцитов у молодых людей, чьи родители страдали гипертонической болезнью. Изучая процессы агрегации тромбоцитов у детей с нарушением липидного профиля из семей с отягощённой наследственностью по сердечно-сосудистым заболеваниям, Keskin A. et al. [10] выявили увеличение индекса агрегации тромбоцитов у детей из семей риска. Авторы расценили выявленные изменения, как маркёр раннего риска развития ИБС в будущем. С гиперхолестеринемией, в данной группе риска, может быть связан и процесс нарушения гемореологических свойств крови, о чём свидетельствуют результаты исследования и других специалистов [3,4,6,14]. Ими выявлено нарушение реологии крови при наследственной гиперхолестеринемии, сопровождавшееся усиление агрегационных свойств не только тромбоцитов, но и эритроцитов. О повышении активности и содержания в плазме некоторых показателей первичного гемостаза у подростков при отягощённой наследственности по атеросклерозу, свидетельствуют данные Wojakowski W. и соавт. [15]. Вместе с тем, недостаточно данных о нарушении первичного гемостаза среди подростков с ожирением и метаболическим синдромом. Нет сведений о том, что выявляемые нарушения процесса агрегации тромбоцитов у больных гипертонической болезнью являются

следствием повышенного давления или патогенетическим фактором в развитии гипертонии.

Целью данного исследования было выявить ранние изменения системы первичного, сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у подростков с сердечнососудистыми факторами риска: артериальной гипертензией, ожирением, отягощённой наследственностью по атеросклерозу.

Материал и методы

Комплексное клиничко-лабораторное исследование состояния первичного гемостаза проведено среди 59 подростков ($15,76 \pm 0,26$ лет) на базе республиканского кардиоревматологического, эндокринологического и лабораторного отделений 2-й детской клинической больницы г. Минска. Среди обследованных у 11 подростков отмечена АГ, у 33 – сочетание дислипидемии и АГ. В контрольную группу вошло 15 человек с гармоничным физическим развитием, не имевших отягощённой наследственности по атеросклерозу, проявлений АГ, лабораторных нарушений липидного обмена. Количественная и половозрастная характеристика обследованных групп подростков представлена в таблице 1. Следует отметить, что группа подростков с дислипидемией была не однородна по составу. В данной группе 15 подростков имели ожирение с лабораторно подтверждёнными признаками инсулинорезистентности и формирующимся метаболическим синдромом (МС). Другая часть из данной группы подростков (18 человек) имели отягощённую наследственность по атеросклерозу, т.к. их отцы перенесли инфаркт миокарда в возрасте до 50 лет и имели признаки окклюзии коронарных сосудов по данным коронарографии. Оценку физического развития подростков проводили с учётом возраста, пола и роста по центильным таблицам, разработанным для детей и подростков в республике (Ляликов С.А. и соавт, 2009). В качестве критерия ожирения использовали значения индекса массы тела (ИМТ), соотнесённые со значениями ожирения и избыточного веса у взрослых по Obesity Education Initiative BMI Calculator (1994). Для диагностики МС пользовались согласованными критериями для детей и подростков, предложенными Международной Диабетической Федерацией (IDF) в 2007 году. Диагноз артериальной гипертензии верифицирован посредством суточного мониторирования АД, а также согласно классификации и критериям гипертензии в детском и подростковом возрасте [1]. Всем пациентам проводили исследование липидного спектра крови по общепринятой методике с определением основных показателей липидограммы. В группе лиц с избыточной массой тела и ожирением определяли тощаковое содержание глюкозы крови, выполняли глюкозотолерантный тест для исключения сахарного диабета.

Как видно из таблицы 1, достоверных возрастных и половых отличий в сравниваемых группах не было. Максимальными значения АД были в группе лиц, страдающих артериальной гипертензией ($P < 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Также достоверно ($P < 0,05$) было повышено АД и в группах лиц с дислипидемией, хотя оно и оставалось несколько ниже, чем среди лиц с АГ. Наибольшая масса тела ($P < 0,001$), по сравнению с контрольной группой, оказалась среди пациентов с дислипидемией и особенно среди страдающих метаболическим синдромом. Повышение уровня холестерина отмечено во всех исследуемых группах по сравнению с контролем ($P < 0,05$). В

группе пациентов с отягощённой наследственностью выявлено максимальное повышение уровней липопротеинов низкой плотности до $3,34 \pm 0,27$ ммоль/л ($P < 0,010$), а среди пациентов с проявлениями МС отмечено существенное ($P < 0,001$) снижение фракции липопротеинов высокой плотности до $0,97 \pm 0,03$ ммоль/л. Признаков сосудистой патологии, поражений капиллярного русла при объективном осмотре выявлено не было.

Исследование системы первичного гемостаза выполнено традиционными методами. Учитывая, что тромбоциты у взрослых больных гипертонической болезнью отличаются повышенной чувствительностью к АДФ [7,10] нами проведена вначале оценка состояния первичного, сосудисто-тромбоцитарного гемостаза по количественному содержанию тромбоцитов. Их агрегационные свойства оценены в присутствии различных концентраций раствора АДФ (0,5; 1,5; 2,5 мкмоль/л) на анализаторе AP 2110 турбидиметрическим методом путём непрерывного измерения коэффициента светопропускания и выстраивания в последующем временных графиков, отражающих степень и скорость процесса агрегации. При этом исследовались также содержание тромбоцитарного ФВ, выделяемого тромбоцитами в ответ на индукцию агрегации. Косвенно, на основании концентрации фактора Виллебранда (ФВ) в плазме, оценена адгезия тромбоцитов, т.к. *in vivo* адгезия тромбоцитарных агрегатов в сосудах к эндотелию происходит при непосредственном участии ФВ (см. рис.1).

In vitro после добавления индуктора агрегации АДФ к плазме, богатой тромбоцитами, вначале изменяется форма пластинок, затем наступает первая фаза агрегации (первичная агрегация), обусловленная агрегационным средством – раствором АДФ. После первичной агрегации крутизна агрегационной кривой понижается, из тромбоцитов высвобождаются биологически активные соединения (АДФ, адреналин, серотонин, тромбоксаны и др.), которые вызывают новую волну агрегации- вторичную агрегацию, что отражается вторичным пиком на агрегатограмме.

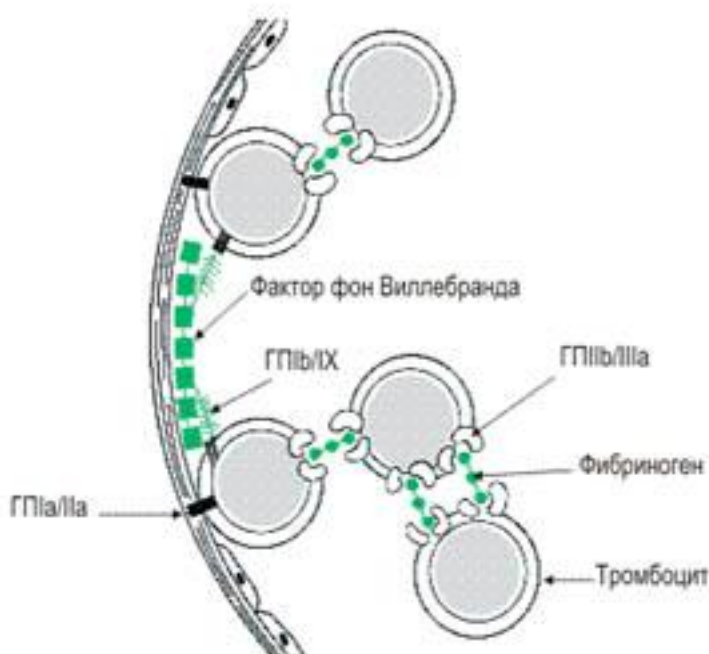


Рис. 1. Схема сосудисто-тромбоцитарного, первичного гемостаза. Фибриноген, как известно, является I фактором вторичного, коагуляционного гемостаза, но он также принимает участие в «склеивании» тромбоцитов между собой посредством рецепторного аппарата, как это видно из рисунка 1. В связи с этим нами исследовано и содержание данного соединения, согласно методу Клауса. Среди взрослых пациентов определено влияние повышенного АД на содержание такого воспалительного маркера, как высокочувствительный С-реактивный белок (вчСРБ) [12]. Учитывая, что фибриноген является маркером острой фазы воспаления, нами определена концентрация вчСРБ, затем проведён корреляционный анализ взаимосвязи содержания фибриногена и вчСРБ. Уровень плазматического содержания ФВ определён с помощью количественного иммуноферментного метода на гематологическом анализаторе «ACL-9000» («IL», США). Во всех случаях забор крови и её дальнейшая подготовка к исследованию проводились согласно прилагаемым инструкциям. Реактив для определения плазматического ФВ представлял собой носитель твёрдой фазы, покрытый моноклональными иммуноглобулинами против ФВ. Принцип исследования сочетал двушаговый иммуноферментный анализ с конечным флуоресцентным энзимсвязанным анализом. Результат рассчитывали автоматически прибором относительно калибровочной кривой. Статистическую обработку всех полученных результатов проводили стандартными методами параметрической статистики. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$. Результаты исследований считали достоверными при значениях $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе проведенного лабораторного исследования состояния первичного гемостаза количество тромбоцитов во всех обследуемых группах соответствовало гематологической норме и не отличалось при сравнении между группами. Признаков петехиальной кровоточивости не было выявлено среди всех обследованных. У лиц с дислипидемией отмечено достоверное ($P < 0,05$) повышение концентрации плазматического ФВ, также не выходящего за пределы гематологической нормы (60-120%), более выраженное в группе с отягощённой наследственностью. Такие изменения, возможно, были обусловлены наличием дисфункции эндотелия на фоне гипертензии и дислипидемии.

Таблица 1.

Характеристика обследованных подростков и агрегация тромбоцитов в исследуемых группах риска

Показатели	Дислипидемия		Артериальная гипертензия	Контрольная группа
	Атеросклероз в анамнезе	Проявления МС		
1. N	18	15	11	15
2. Возраст, лет	15,86±0,36	15,38±0,30	15,68±0,23	15,67±0,37
3. Пол (м/ж)	10/8	8/7	6/5	8/7
4. САД/ДАД среднесут. мм.рт.ст	134,0±4,92/ 85,0±3,73*	130,71±4,74/ 80,71±2,37*	148,69±3,05/ 89,72±3,25*	108,0±4,35/ 68,0±4,14
5. ИМТ, кг/м ²	30,40±0,98***	33,79±1,46***	24,79±1,46	22,18±1,45
6. Холестерин, ммоль/л	5,26±0,26*	5,36±0,21*	4,32±0,14*	3,35±0,04
7. Триглицериды, ммоль/л	1,89±0,31*	1,95±0,17*	0,85±0,08	0,73±0,11
8. Количество тромбоцитов, x 10 ³ /мм ³	248,29±7,1	244,24±6,4	243,54±9,12	257,23±7,31
9. Фактор Виллебранда (плазматыческий), %	106,16±7,23*	104,58±5,98*	71,89±11,72	73,38±6,65
10. Фибриноген, г/л	3,78±0,12***	3,89±0,14***	3,38±0,11*	3,04±0,10
11. Показатели агрегации тромбоцитов				
Индуктор агрегации АДФ-0,5 мкмоль/л				
Степень, %	22,26±0,99***	31,57±2,31***	19,25±1,24**	16,14±1,04
Скорость %/мин	34,57±1,96***	37,42±2,36***	23,56±2,32	20,49±2,59
ФВ (тромбоцитарный), %	116,26±9,56**	125,31±8,77***	85,0±3,18	87,17±2,91
Индуктор агрегации АДФ -1,5 мкмоль/л				
Степень, %	59,03±7,31	68,84±5,54**	52,30±3,02	44,58±6,73
Скорость %/мин	47,79±4,12	51,15±3,73	49,96±3,58	47,46±2,99
ФВ (тромбоцитарный), %	174,43±9,34	182,71±8,43*	159,55±7,23	156,58±8,94
Индуктор агрегации АДФ- 2,5 мкмоль/л				
Степень, %	67,03±2,99	68,84±4,47	69,78±4,43	67,86±3,54
Скорость %/мин	51,07±3,49	56,40±2,24*	51,34±3,91	48,44±3,19
ФВ (тромбоцитарный), %	182,09±5,62	185,44±6,20	175,37±8,10	170,18±7,37

Примечание: Достоверность различий показателей в сравнении с таковыми в контрольной группе при P<0,05(*), при P< 0,010(**) и P<0,001 (***), соответственно.

Общая характеристика процесса агрегации тромбоцитов среди обследованных лиц с АГ. При концентрации индуктора агрегации раствора АДФ 0,5 мкмоль/л процесс агрегации происходил за 43,28±2,19 сек, что соответствовало условной норме (до 60 сек, Е.П.Иванов, 1991). При сравнении степени агрегации с тромбоцитарной плазмой здоровых подростков в исследуемой группе отмечено увеличение степени агрегации у 23,7 % и её снижение у 31,6% обследованных. У большинства пациентов степень агрегации оставалась в норме. Концентрация тромбоцитарного ФВ, рассчитанная автоматически анализатором, составила 83,38±6,59 %, что соответствовало норме. Таким образом, у большинства подростков с АГ при низких концентрациях индуктора процесс агрегации не отличается по времени и степени от лиц с нормальным АД. Лишь у трети пациентов отмечалось увеличение степени агрегации.

При концентрации индуктора раствора АДФ 1,5 мкмоль/л форма кривых агрегации представляла почти у половины обследованных двухволновую кривую, обусловленную выделением эндогенных индукторов агрегации (рис. 2). Она наблюдалась среди 52,6 % пациентов. При этом процесс агрегации был

необратим у 71,1% подростков из данной группы. Длительность данного процесса составила в среднем $2,56 \pm 1,2$ мин, концентрация тромбоцитарного ФВ возросла до $150,01 \pm 7,12$ % ($P < 0,001$).

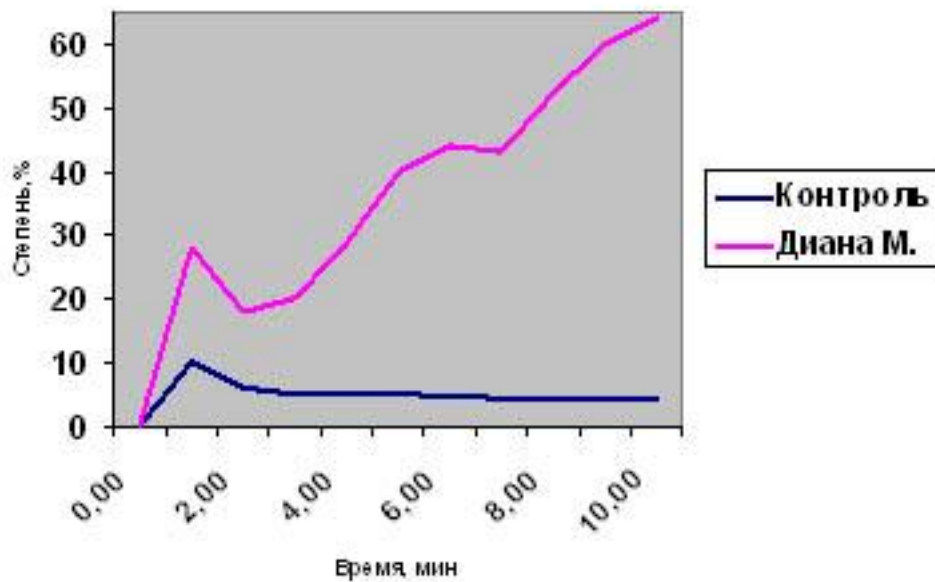


Рис. 2. Агрегатограмма Дианы М., 17 лет. (р-р АДФ 0,5мкмоль/л). Степень агрегации - 63,2 % (в норме- $16,14 \pm 1,04$ %); скорость – 38,6 %/мин (в норме - $20,49 \pm 2,59$ %/мин). Отмечается необратимая двухволновая агрегация на 1 и 7 минуте исследования. У ребёнка артериальная гипертензия I ст., риск II. Дислипидемия. Отягощённая наследственность по атеросклерозу. Процесс агрегации при концентрации индуктора 2,5 мкмоль/л протекала у 89,5% обследованных в виде одноволновой кривой и при этом носила необратимый характер (у 60,5%). Время её было удлинено до $4,45 \pm 1,04$ мин при возросшей концентрации ФВ до $170,16 \pm 5,82$ % ($P < 0,05$). В целом структурные изменения процесса агрегации среди всех обследованных пациентов с АГ представлены на рис.3.

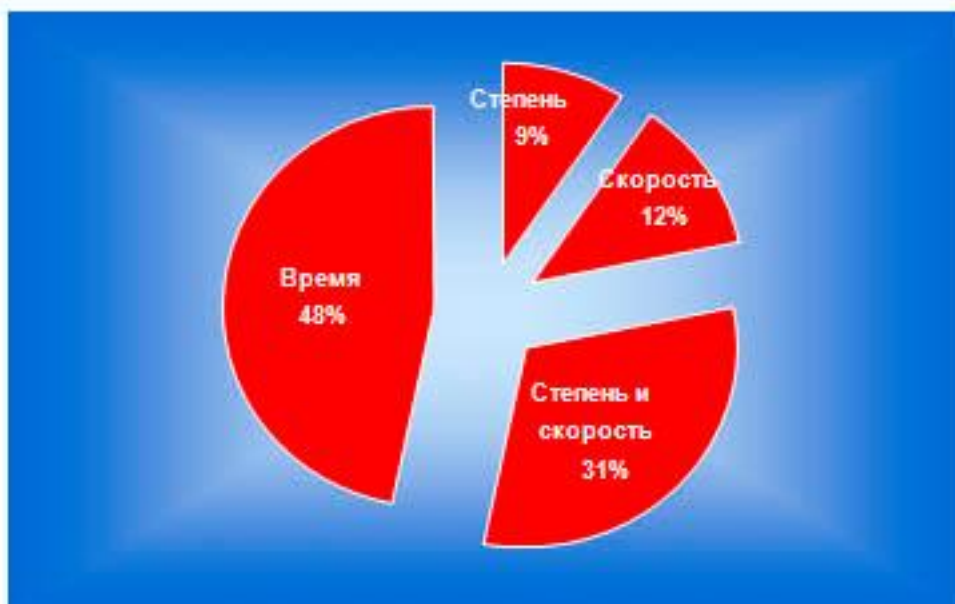


Рис. 3. Структура изменения показателей агрегации тромбоцитов у лиц с АГ. Агрегация тромбоцитов среди пациентов обследованных групп выявила ряд отличий. Увеличение скорости и степени агрегации по сравнению с контролем ($P < 0,001$) отмечено среди пациентов, имеющих дислипидемию и особенно проявления метаболического синдрома. Ускорению процесса агрегации также способствовал процесс активной секреции ФВ самими тромбоцитами у больных с дислипидемией. Среди лиц, имеющих только АГ, отмечено достоверное ($P < 0,010$) увеличение степени агрегации лишь у 4 пациентов (18,2%), причём данный процесс носил обратимый характер, что свидетельствует об отсутствии выраженных и стойких нарушениях первичного гемостаза среди пациентов с не осложнённой формой гипертензии.

С увеличением концентрации индуктора достоверных различий в агрегации было выявлено меньше, но при этом процесс имел, как правило, не обратимый характер. Во всех исследуемых группах отмечена тенденция к росту степени и скорости данного процесса, а также активации тромбоцитов и выделению ими ФВ. Достоверными отличия были в группе с проявлениями МС в виде увеличения степени агрегации при концентрации индуктора 1,5 мкмоль/л ($P < 0,010$) и скорости агрегации при концентрации индуктора в 2,5 мкмоль/л ($P < 0,05$).

Таким образом, среди подростков, страдающих артериальной гипертензией, выявлены нарушения первичного гемостаза в виде изменения процесса агрегации тромбоцитов. Такие изменения были обусловлены наличием дислипидемии как наследственного (перенесённый инфаркт миокарда родителями), так и приобретённого характера (ожирение, осложнённый метаболическим синдромом). Значительно реже (лишь в 18,2%) отмечено нарушение агрегации в группе подростков, имеющих неосложнённую форму гипертензии. Среди изменений агрегации следует отметить ускорение данного процесса при увеличении её степени, преимущественно в группах с дислипидемией. Значительно быстрее процесс агрегации происходил на более низких концентрациях индуктора (раствор АДФ) и имел, как правило, обратимый характер. При более высоких концентрациях индуктора не было выявлено изменений скорости агрегации, при этом данный процесс имел необратимый характер.

Как известно среди взрослых пациентов с гипертензией отмечается прямая корреляционная зависимость между уровнями артериального давления и содержанием фибриногена. По данным Фрамингемского исследования наличие погранично высоких значений фибриногена в популяции взрослых приводит к сгущению крови и достоверному увеличению в 1,8 раз количества тромбоваскулярных осложнений [9]. По результатам проведенного нами исследования во всех наблюдаемых группах отмечено достоверное повышение фибриногена. Наибольшие значения при этом отмечены у подростков с отягощённой наследственностью по инфаркту миокарда и в группе с наличием метаболического синдрома. Следует отметить, что фибриноген является маркёром и острой фазы воспаления, что возможно косвенно свидетельствует о наличии воспалительного процесса при артериальной гипертензии. Данный процесс объясняют развитием воспалительного ответа в сосудистой стенке и повышением содержания провоспалительных цитокинов (фактора некроза

опухолей- α и интерлейкина-6), которые и стимулируют синтез в печени фибриногена [11,13].

Результаты проведенного корреляционного анализа фибриногена среди ... человек представлены на рисунке 2. Как видно из данной диаграммы, наибольшее влияние на показатели фибриногена оказывает наличие воспалительного процесса в организме, что подтверждается повышенным уровнем вчС-реактивного белка. Наибольшим содержанием вчСРБ оказалось среди подростков с проявлениями метаболического синдрома и составило $1,85 \pm 0,37$ мг/л ($P < 0,001$, при сравнении с контрольной группой ($0,39 \pm 0,04$ мг/л)). Также достоверно была увеличена его концентрация среди подростков с отягощённой наследственностью по инфаркту миокарда до $1,62 \pm 0,51$ мг/л ($P < 0,05$) и при наличии только артериальной гипертензии ($1,33 \pm 0,38$ мг/л; $P < 0,05$).

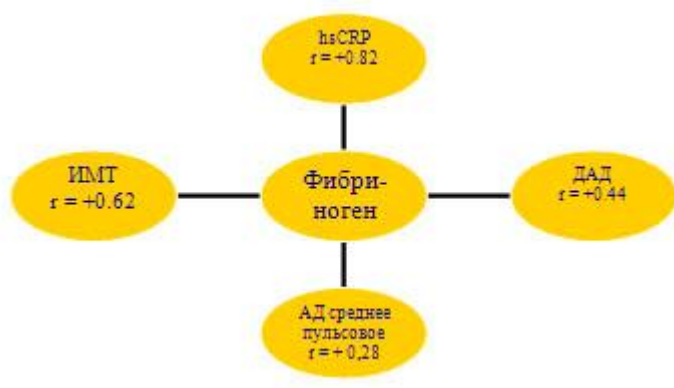


Рис. 2. Корреляционные взаимосвязи содержания фибриногена в крови детей с артериальной гипертензией

Таким образом, существенное влияние оказывает наличие ожирение, что подтверждается умеренно выраженной корреляцией с индексом массы тела. Достоверное ($P < 0,05$) и также умеренное влияние оказывают значения ДАД. Таким образом, фибриноген является маркёром острой фазы воспаления и его повышение не только у взрослых, но и среди подростков с артериальной гипертензией и ожирением обусловлено вероятно воспалительным процессом, развивающимся на фоне избыточного веса и повышенного АД.

Выявленные изменения в системе первичного гемостаза среди пациентов подросткового возраста с артериальной гипертензией отличаются его активацией в виде повышения показателей агрегации тромбоцитов.

Выводы:

1. Среди лиц подросткового возраста, страдающих артериальной гипертензией, выявлены изменения первичного гемостаза в виде усиления агрегационных свойств тромбоцитов у 23,7 % обследованных. Ускорению процесса агрегации способствует наличие дислипидемии, особенно наблюдаемой при ожирении с проявлениями метаболического синдрома.
2. Наиболее информативными параметрами процесса агрегации тромбоцитов у подростков с артериальной гипертензией являются: скорость и степень

агрегации, уровень секреции тромбоцитами фактора Виллебранда в ответ на воздействие индуктора в малых концентрациях (раствор АДФ).

3. Также как и среди взрослых пациентов с артериальной гипертензией, у подростков с гипертензией процесс агрегации тромбоцитов происходит на фоне повышения содержания фибриногена, что обусловлено воспалительными причинами.

4. Подростки с нарушениями первичного гемостаза должны составить группу для дальнейшего динамического наблюдения и во взрослом состоянии, как, возможно, контингент высокого риска по развитию тромбогенных состояний.

Литература

1. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков (второй пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2009. № 4. Прил. 1. 22 с.
2. Кисляк, О. А. Артериальная гипертензия в подростковом возрасте / О. А. Кисляк. М.: Миклош, 2007. 288 с.
3. Минушкина, Л. О. Ассоциация генетических факторов с клиническими особенностями гипертонической болезни у больных с отягощённым семейным анамнезом / Л. О. Минушкина [и др.] // Кардиология. 2009. № 2. С. 38–46.
4. Хавка, Н. Н. Роль воспаления в развитии нарушений углеводного обмена у больных артериальной гипертензией: автореф. ... канд. мед. наук / Н. Н. Хавка. М., 2008. 24 с.
5. Цыбин, А. К. Анализ показателей смертности от болезней системы кровообращения / А. К. Цыбин [и др.] // Здравоохранение. 2004. № 3. С. 5–10.
6. Akinci, G. Evaluation of markers of inflammation, insulin resistance and endothelial dysfunction in children as risk for overweight / G. Akinci [et al.] // Hormones (Athens). 2008. Vol. 7, № 2. P. 156–162.
7. Dockrell, M.E.C. Platelet aggregation in young men with contrasting predisposition to high blood pressure / M.E.C. Dockrell [et al.] // Am.J.Hypertens. 1999. Vol. 12. P. 115–119.
8. Juhan-Vague, I. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities / I. Juhan-Vague [et al.] // Circulation. 1996. Vol. 94. P. 2057–2063.
9. Kannel, W. B. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease / W. B. Kannel [et al.] // The Framingham Study. JAMA 1987; 258: 1183–1186.
10. Keskin, A. Fibrinolytic activity and platelet release reaction in essential hypertension / A. Keskin, T. Mombuloglu, F. Buyukkececi // Jpn. Heart J. 1994. Vol. 35, № 6. P. 757–763.
11. Koenig, W. Increased concentration of C-reactive protein and IL-6 but not IL-18 are independently associated with incident coronary events in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study / W. Koenig [et al.] // Arter.Thromb.Vasc.Biol. 2006. Vol. 26, № 12. P. 2745–2751.
12. Ladwig, K. H. C-reactive protein, depressed mood, and the prediction of coronary heart disease in initially healthy men: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study / K. H. Ladwig [et al.] // Eur.Heart J. 2005. Vol. 26, № 23. P. 2537–2542.

13. Sankar, V. H. TNFR 2 gene polymorphism in coronary artery disease / V. H. Sankar [et al.] // *Indian.J.Med.Sci.* 2005. Vol. 59, № 3. P. 104–108.
14. Sattar, N. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study / N. Sattar [et al.] // *Circulation.* 2003. Vol. 108. P. 414–419.
15. Wojakowski, W. Plasma levels of von willebrandt factor, endothelin-1, prostacyclin and thromboxane in children from families with high risk of premature coronary artery disease / W. Wojakowski, J. Gmiewskiy // *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 2001. Vol. 61, № 4. P. 317–323.