

## СОПРЯЖЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ КООГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА, ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ПРОЯВЛЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Я. Н. Шойхет, А. П. Момот, И. А. Карбышев, А. П. Цыпкина, Д. А. Никитина

<sup>1</sup> – ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава»,

<sup>2</sup> – Алтайский филиал ГУ «Гематологический научный центр РАМН»,

<sup>3</sup> – Алтайский краевой диагностический центр, г. Барнаул, Россия

**Пр**иведены результаты обследования 29 больных с инфекционно-септическим ДВС-синдромом на фоне тяжелой пневмонии. Выявлены признаки интенсивного фибринообразования, высокий уровень маркеров тромбоинемии и активации фибринолиза. Установлены новые закономерности взаимодействия реакции гемостаза и воспаления в условиях системного повреждения эндотелия кровеносных сосудов.

**Ключевые слова:** пневмония, гемостаз, дисфункция эндотелия

**The** results of the examination of 29 patients with the disseminated intravascular coagulation in septic conditions with underlying severe pneumonia are discussed. Symptoms of intensive fibrinogenesis, high level of thrombinemia markers and activation of fibrinolysis are revealed. New regularities concerning the interaction between the hemostatic reaction and the inflammation under the conditions of systemic endothelial damage of blood vessels are determined.

**Key words:** pneumonia, hemostasis, endothelial dysfunction.

Проблемы инфекционной патологии, развития острого деструктивного процесса в паренхиматозных органах в течение многих лет изучаются с позиций взаимодействия микро- и макроорганизма, учета чувствительности возбудителей инфекции к антибиотикам и противовирусным препаратам. В рамках этих представлений роль системы гемостаза, объединяющей сосудисто-тромбоцитарное, коагуляционное, антикоагулянтное и фибринолитическое звенья, как физиологический фактор защиты при инфекционных поражениях органов и тканей учитывается совершенно недостаточно, что отмечалось в ряде наших недавних публикаций [1, 2]. Исходя из современных представлений можно видеть, что свертывание крови и воспаление выступают как два независимых процесса, однако имеется ряд общих звеньев, которые делают их частью единой системы защитного ответа на проникновение в организм чужеродных микроорганизмов – бактерий и вирусов. Особенно наглядно это проявилось сравнительно недавно, в конце 2009 – начале 2010 гг., в ходе изучения патогенеза и клинических проявлений у больных, инфицированных вирусом гриппа А/Н1N1, поражающим в первую очередь дыхательные пути, сосудистую сеть и интерстиций легких человека. Данный вирус имеет тропность к альвеолярному эпителию и эндотелию кровеносных сосудов, что обуславливает картину заболевания, подтвержденную гистологическими исследованиями, характеризующуюся быстрым развитием дистресс-синдрома с массивным геморагическим пропитыванием ткани легкого и отсроченными по времени проявлениями инфекционно-септического ДВС-синдрома (в виде почечной, церебральной, кишечной дисфунк-

ции и др.). Эта картина не вполне вписывается в известный сценарий смены гемокоагуляционных нарушений при остром септическом ДВС, когда исходно манифестирует микротромбообразование с блокадой сосудов микроциркуляторного русла, приводя к инфарктам тканей, а в последующем определяется локальная или рассеянная кровоточивость по смешанному типу (согласно классификации Э. С. Баркагана, 1975) [3–8]. В связи с этим нами выполнены исследования по оценке сдвигов гемостатических реакций, воспаления и проявлений эндотелиоза у больных с вирусно-бактериальной пневмонией, проходивших лечение в отделении пульмонологии Алтайского краевого пульмонологического центра.

### Материалы и методы исследования

Обследовано 29 больных с инфекционно-септическим ДВС-синдромом на фоне тяжелой пневмонии, 9 из которых (31%) находились на искусственной вентиляции легких в связи с развитием респираторного дистресс-синдрома. Время пребывания на респираторной поддержке составляло от 4 до 21 суток. Наряду с проведением противовирусной, антибактериальной и дезинтоксикационной терапии с целью коррекции гемостатических реакций в схему лечения включались низкомолекулярные гепарины (фраксиларин, клексан), ингибиторы системного протеолиза (контрикал) и свежемороженая плазма в соответствии с существующими рекомендациями [9].

Больные проходили комплексное обследование, включающее общеклиническое и биохимическое тестирование, развернутый анализ всех звеньев системы гемостаза, оценку маркеров эндотели-

альной дисфункции и системного воспалительного ответа [10].

В связи с тем что начало вирусной пневмонии, как правило, скрывалось под маской ОРВИ и диагноз в лечебных учреждениях края устанавливался с опозданием, обследование данных пациентов проводилось спустя 1–3 недели от начала заболевания, когда на исходную вирусную инфекцию закономерно наслаивалась вторичная бактериальная.

## Результаты

Комплексное исследование системы гемостаза зафиксировало признаки интенсивного фибринообразования на данном этапе заболевания, что иллюстрировалось высоким уровнем маркеров тромбемии и активации фибринолиза (растворимого фибрина и D-димера), (табл. 1). Факт внутрисосудистого фибринообразования подтверждался также наблюдаемым снижением уровня циркулирующего в крови плазминогена, имеющего высокую тропность к внутрисосудистым депозитам фибрина.

В отличие от классического варианта течения инфекционно-септического ДВС у наших пациентов не было найдено, по средним данным, значительного потребления физиологических антикоагулянтов – антитромбина III (лишь в двух случаях активность составляла 69% и 76%) и протеина С (в четырех случаях, активность в диапазоне от 50% до 69%), что, по-видимому, было связано с проведением эффективной заместительной гемоконцентратной терапии.

Исследование числа тромбоцитов и их агрегационной функции выявило тромбоцитопению в шести случаях (в диапазоне от 76 до  $159 \times 10^9/\text{л}$ ) и в 100% случаев выраженное снижение чувствительности кровяных пластинок к адреналину (табл. 2). Последнее может быть объяснено использованием в комплексной фармакотерапии препаратов противозоспалительной группы и в сочетании с достаточно часто встретившейся резистентностью тромбоцитов к коллагену (51,7%) может играть роль в формировании геморрагического синдрома.

Таким образом, в обозначенной стадии болезни наряду с выраженной склонностью к фибри-

**Маркеры тромбемии и сдвиги в антикоагулянтной и фибринолитической системах крови у больных**

Таблица 1

Показатели	Норма (N)		Группа больных									
	M min	M max	Средние показатели			Частота отклонений показателей от нормы						
			n	X	±m	в пределах нормы		< N		> N		
							абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Растворимый фибрин, мг/100 мл		<6	29	18,4	0,9	-	-				29	100,0
D-димер, нг/мл		<250	26	571,5	104,4	9	34,6				17	65,4
Антитромбин III, %	80	120	29	100	2,3	26	89,7	2	6,9	1	3,4	
Протейн С, %	70	140	26	100,7	6,3	20	76,9	4	15,4	2	7,7	
Плазминоген, %	80	120	29	90	3,9	20	69,0	8	27,6	1	3,4	

**Число и функциональная активность тромбоцитов у больных**

Таблица 2

Показатели	Норма (N, контрольная группа)		Средние показатели у больных			Частота отклонений показателей от нормы					
	M min	M max	n	X	±m	в пределах нормы		< N		> N	
						абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Агрегация тромбоцитов с АДФ, %	70	80	29	74,3	2,7	6	20,7	12	41,4	11	37,9
Агрегация тромбоцитов с адреналином, %	70	80	29	33,9	3,5	-	-	29	100,0	-	-
Агрегация тромбоцитов с коллагеном, %	70	80	29	65,4	2,5	13	44,8	15	51,7	1	3,4
Количество тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	170	350	13	231,8	34,4	5	38,5	6	46,2	2	15,4

нообразованию имели место компенсация убыли физиологических антикоагулянтов, обычно характерной для септического ДВС, и снижение в большинстве случаев агрегационной функции тромбоцитов. Все это в целом характеризовало проявления тромбеморрагического синдрома, наблюдаемого у наших пациентов.

Оценивая воспалительный ответ, можно отметить наличие выраженной воспалительной реакции у 55–79% больных в виде лейкоцитоза (до  $19,1 \times 10^9/\text{л}$ ), нарастания уровня белков острой фазы воспаления (фибриногена до  $7,1 \text{ г/л}$ , С-реактивного белка до  $120 \text{ мг/л}$ ) в сочетании с проявлениями диспротеинемии по данным измерения СОЭ (табл. 3).

Эти данные, на наш взгляд, отражают тесную связь процессов воспаления и тромбообразования при вирусно-бактериальной пневмонии, локализующихся как в кровеносных сосудах, так и в периваскулярном пространстве, что играет важную роль в формировании полиорганной недостаточности.

Выявленные нарушения сопровождалась лабораторными признаками эндотелиальной дисфункции, возникающей при воздействии повреждающих агентов (механических, инфекционных, обменных, иммунокомплексных и т. п.), что резко меняет направление выделительной активности эндотелия на противоположную – образуются вазоконстрикторы, вещества, активизирующие свертывание крови и тромбоциты. При кратковременном действии повреждающих агентов эндотелий продолжает выполнять защитную функцию, препятствуя кропотере. Но при продолжительном повреждении сосудистой стенки, по

мнению многих исследователей, эндотелий начинает играть ключевую роль в патогенезе ряда системных патологий (атеросклероз, гипертония, инсульты, инфаркты органов и др.). Это объясняется участием эндотелия в активизации ренин-ангиотензиновой и симпатической систем, переключением активности эндотелия на синтез оксидантов, вазоконстрикторов, проагрегантов и тромбогенных факторов, а также уменьшением деактивации эндотелиальных биологически активных веществ из-за повреждения эндотелия некоторых сосудистых областей (в частности, в легких) [5, 11, 12]. Ряд причин инверсии свойств эндотелия от тромбозорезистентных к тромбогенным в присутствии бактериального полисахарида и провоспалительных цитокинов (интерлейкинов 1, 6, 8, 10, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерферона- $\beta$ ) изложен в табл. 4.

Отметим, что, по данным зарубежных авторов, общий путь входа для многих вирусов (вирус герпеса простого (HSV) [13, 14], аденовирус (пара) вирус гриппа, вирус поликомелита, ЕСНО-вирус, вирус кори, вирус свинки, вирус цитомегалии (CMV) и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)) [15], может быть связан с инвазией эндотелиальных клеток. Показано, что при геморрагической лихорадке, вызванной лихорадочной денге, вирусами Marburg, Ebola, Hantaan и Lassa, увеличивается вероятность возникновения кровотечения в результате повреждения эндотелиоцитов, особенно в комбинации с тромбоцитопенией. Проникновение грамотрицательных бактерий и липополисахарида (ЛПС) в кровотоки вызывает реакцию через соединение ЛПС и

**Маркеры системной воспалительной реакции у пациентов**

Таблица 3

Показатели	Норма (N, контрольная группа)		Средние показатели у больных			Частота отклонений показателей от нормы					
	M min	M max	n	X	$\pm m$	в пределах нормы		< N		> N	
						абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Фибриноген, г/л	2	4	29	4,4	0,2	13	44,8	-	-	16	55,2
С-реактивный белок, мг/л		<5	29	35,8	6,5	6	20,7			23	79,3
Кол-во лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	4	9	13	11,7	1,3	4	30,8	-	-	9	69,2
СОЭ, мм/ч	3	10	13	40,5	5,0	-	-	-	-	13	100,0

**Основные эффекты эндотоксина и провоспалительных цитокинов, направленные на эндотелий кровеносных сосудов**

Таблица 4

1	Снижение синтеза оксида азота (NO)
2	Снижение генерации простаглицлина (PGI2)
3	Экспрессия тканевого фактора (TF)
4	Синтез и высвобождение фактора агрегации тромбоцитов (FAT)
5	Секреция фактора Виллебранда
6	Снижение секреции тканевого активатора плазминогена (ТРА) и повышения высвобождения его ингибитора (PAI-1)
7	Снижение выделения тромбомодулина
8	Экспрессия адгезивных молекул, опосредующих адгезию лейкоцитов

ЛПС-связывающего белка, который взаимодействует с опсоническим рецептором CD14, существующим в мембранно-связанной и растворимой формах. Клетки, которые не выражают CD14, могут ответить на ЛПС через растворимую CD14 молекулу [16].

Комплекс ЛПС-CD14 является пусковым механизмом одного из семейства Толл-подобных рецепторов (TLR), из которых TLR-4 является наиболее важным для стимулирующая множество эффектов реакции организма. Врожденный иммунный ответ включает выпуск модулирующих воспаление цитокинов из активированных моноцитов и макрофагов.

Возвращаясь к нашим наблюдениям, можно отметить, что у 90% пациентов был обнаружен высокий уровень активности фактора Виллебранда (до 298% от уровня нормы) и в 64% случаев – гиперпродукция эндотелина 1 (до 1,8 фмоль/л), что свидетельствовало о наличии тяжелого системного эндотелиоза у обследованных больных (табл. 5).

Согласно современным представлениям, основными стимулами выброса в кровоток эндотелина 1 и фактора Виллебранда являются гипоксия, ишемия тканей и острый стресс. При этом основной механизм специфического действия осмойства эндотелинов заключается в высвобождении кальция, что вызывает стимуляцию всех фаз гемостаза, начиная с агрегации тромбоцитов и заканчивая образованием фибринового сгустка. Эндотелин 1 способен тормозить выделение из эндотелия тканевого активатора плазминогена и стимулировать активность ингибитора активатора плазминогена I типа, способствуя таким образом внутрисосудистому свертыванию крови. В свою очередь фактор Виллебранда стимулирует тромбообразование посредством фиксации рецепторов тромбоцитов к коллагену и фибронектину сосудов, а также друг

к другу, усиливая в результате как адгезию, так и агрегацию тромбоцитов [5, 6, 8].

В образцах крови больных было определено также значительное повышение (в 95–100% наблюдений) уровня провоспалительных цитокинов, медиаторов межклеточного взаимодействия – интерлейкина-1 (ИЛ-1; до 2042 пг/мл) и интерлейкина-6 (ИЛ-6; до 267 пг/мл). В то же время уровень фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), под воздействием которого осуществляется синтез ИЛ-1 и ИЛ-6, оставался в пределах нормальных колебаний, что, вероятно, было связано со сравнительно поздними сроками исследования после начала инфекционного заболевания.

Как известно, провоспалительные цитокины синтезируются, секретируются и действуют через свои рецепторы на клетки-мишени уже на ранней стадии воспаления, участвуя в запуске специфического иммунного ответа. ИЛ-1 является главным медиатором развития местного воспаления и острофазного ответа на уровне организма. Он повышает экспрессию клеточных адгезивных молекул (CAM) в эндотелии и адгезию к нему лейкоцитов, активирует сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, способствует гиперкоагуляции и подавлению фибринолиза. Его действие на клетки печени проявляется продукцией острофазных белков, что мы также отмечали в наших наблюдениях. ИЛ-6 же обеспечивает рост и дифференцировку В-лимфоцитов, способствуя переходу последних в антителопродукторы. Кроме того, он, как и ИЛ-1, стимулирует гепатоциты, приводя к образованию белков острой фазы воспаления. Под воздействием ИЛ-6 усиливается процесс свертывания крови и тормозится фибринолиз, что способствует возникновению и дальнейшей эволюции ДВС-синдрома [5].

Маркеры эндотелиоза и уровень провоспалительных цитокинов у обследованных больных

Таблица 5

Показатели	Норма (N, контрольная группа)		Средние показатели у больных			Частота отклонений показателей от нормы					
	M min	M max	n	X	$\pm m$	в пределах нормы		< N		> N	
						abs. число	%	abs. число	%	abs. число	%
Фактор Виллебранда, %	50	150	29	242,7	9,6	4	13,8	-	-	25	86,2
Эндотелин 1, фмоль/л	0,2	0,7	22	1,09	0,2	8	36,4	-	-	14	63,6
ИЛ-1, пг/мл		<50	22	417,1	106,5	1	4,5			21	95,5
ИЛ-6, пг/мл		<5	22	114,7	14,9	-	-			22	100,0
ФНО- $\alpha$ , пг/мл		<50	22	9,9	2,0	22	100,0			-	-

### Обсуждение и выводы

В данной работе получены свидетельства того, что в генезе вирусно-бактериальной пневмонии имеются разноплановые взаимодействия и дисрегуляция системы гемостаза и воспаления, объясняющие формирование тромбоцитарных событий.

Результаты настоящих исследований получены при обследовании больных в развернутой стадии заболевания, характеризующейся присоединени-

ем вторичной бактериальной инфекции, в связи с чем найденные нарушения гемостатических реакций отражают картину инфекционно-септического ДВС-синдрома с компенсацией трансфузионными воздействиями уровня физиологических антикоагулянтов – антитромбина III и протеина С, снижением функции тромбоцитов и документированного резким возрастом в крови уровня D-димера и С-реактивного белка. Синхронность повышения

уровня последних, а также гиперпродукция ИЛ-1 и ИЛ-6 отражают безусловную связь гемостатических и воспалительных реакций при вирусно-бактериальной пневмонии.

В соответствии с высказанными нами ранее воззрениями эндотелий обеспечивает первый, физиологический, блок для распространения инфекции и деструкции тканей [1]. Помимо трансэндотелиальной миграции клеток крови, с отечной жидкостью в зону тканевого повреждения поступают ингибиторы протеиназы, антиоксиданты, иммуноглобулины, опсонины и, что особенно важно, фибриноген вместе с другими белками плазмы крови, с переносом коагуляционных реакций с участием тромбина и фибриногена в ткани органов. Таким образом, создаются условия для формирования патологического фибринового блока, ограничивающего генерализацию инфекции, но уменьшающего жизнеспособность тканей.

Учитывая имеющиеся описания морфологической картины легких и других жизненно важных органов в первые дни вирусной пневмонии (A/H1N1), сводящиеся к тотальному геморрагическому пропитыванию тканей, мы можем предполагать, что начальные фазы процесса, по всей видимости, сводились к массивному вирусному поражению эндотелия сосудов и эпителия дыхательных путей без активации системы гемостаза, что при утрате барьерной функции эндоте-

лия способно привести к перераспределению жидкой части крови из сосудистого русла в межальвеолярное пространство с формированием острого респираторного дистресс-синдрома у больных.

Можно также видеть, что данный вид внешней агрессии (инвазия вируса H1N1) обходит защитные физиологические механизмы (в т. ч. с участием ДВС-синдрома) ограничения патологического очага с участием процессов гемостаза и воспаления. В связи с этим при дефектах первичного и вторичного блоков распространения патологического процесса, при вирусной пневмонии может происходить быстрое повреждение ткани легкого с заполнением его дыхательного пространства плазмой крови, обуславливая крайне высокую тяжесть течения заболевания.

Таким образом, можно констатировать, что в ходе течения вирусно-бактериальной пневмонии выявлены новые закономерности, описывающие взаимодействие реакций гемостаза и воспаления в условиях системного повреждения эндотелия кровеносных сосудов. Они проявляются в раннем наступлении кровоточивости в месте вирусного поражения тканей и отсроченном по времени разрывании диссеминированного микротромбообразования. Данные наблюдения могут помочь в совершенствовании тактики оказания неотложной помощи больным с этим видом патологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шойхет, Я.Н. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов иодной деструкции органов и тканей / Я.Н. Шойхет, А.П. Момот // Проблемы клинической медицины. 2008. — № 4 (16). — С. 102–117.
2. Шойхет, Я.Н. Дефиниция в учении о синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / Я.Н. Шойхет, А.П. Момот // Проблемы клинической медицины. 2009. — № 1 (19). — С. 104–109.
3. Баркаган, З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома // *Materia Medica*, 1997. — № 1 (13). — С. 5–14.
4. Баркаган, З.С. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома / З.С. Баркаган, А.П. Момот // *Вестник гематологии*, 2005. — Т. 1. — № 2. — С. 5–14.
5. Кузник, Б.И. Физиология и патология системы крови. — Чита, 2004. — 336 с.
6. Levi, M. Coagulation cascade in sepsis // *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*. Abstr. From the 20th International Congress on Thrombosis, Athens, Greece, June 25–28, 2008. — Vol. 36. — Suppl. 1 (2007–2008). — P. 109–110.
7. Levi, M. Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia / M. Levi, M. Schultz, A. Rijneveld, van der Poll T. // *Crit. Care Med.* — 2003. — V. 31. — Suppl. 4. — P. 238–242.
8. Schouten, M. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis / M. Schouten, W. Wiersinga, M. Levi, van der Poll T. // *J. Leukoc. Biol.*, 2008. — Vol. 83. — Suppl. 3. — P. 536–545.
9. Баркаган, З.С. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах / З.С. Баркаган, Я.Н. Шойхет // *Гематология и трансфузиология*. — 1989. — № 10. — С. 8–12.
10. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза // З.С. Баркаган, А.П. Момот // М.: Ньидзимед, 2001. — 296 с.
11. Лепилова, А.В. Некоторые иммуногистохимические исследования при остром абсцессе и гангрене легкого / А.В. Лепилова, Ю.Г. Молчи, Я.Н. Шойхет // *Проблемы клинической медицины*. — 2008. — № 1 (13). — С. 62–66.
12. Шойхет, Я.Н. Структурные особенности сосудистого компартмента при острых абсцессах и гангрене легкого / Я.Н. Шойхет, А.В. Лепилова, П.М. Ларкинов и др. // *Проблемы клинической медицины*. — 2007. — № 4 (12). — С. 62–68.
13. Almeida, G. Human cytomegalovirus alters interleukin-6 production by endothelial cells / G. Almeida, C. Porada, St. Joor S, et al. // *Blood*, 1994. — V. 83. — P. 370–376.
14. Kling, D. Identification of a monocyte receptor on herpes virus-infected cells / O. Kling, R. Silverstein, D. Hajjar // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991. — V. 88. — P. 7200–7203.
15. Dudding, L. Cytomegalovirus infection stimulates expression of monocyte associated mediator genes / L. Dudding, S. Haskel, B.D. Clark, et al. // *J. Immunol.*, 1989. — V. 143. — P. 3343–3352.
16. Cohen, J. The Immunopathogenesis of sepsis // *Nature*, 2002. — V. 420. — P. 885–891.