БЕЛКИ СИСТЕМЫ ФАКТОРА ХАГЕМАНА В ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ОСТРОГО ПЕРИОДА ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Т. И. Борщикова[1], Н. Н. Епифанцева[1,3], Ю. А. Чурляев[1], Н. В. Никифорова[2], Я. А. Жукова[3], А. И. Пирогова[3], Е. А. Никитина[3], А. В. Екимовских[3]

[1] Филиал НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Новокузнецк
[2] ГОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» Федерального агентства по здравоохранению и соцразвитию,
[3] МЛПУ «Городская клиническая больница №1», Новокузнецк

Proteins of the Hageman Factor System in an Inflammatory Reaction in the Acute Period of Severe Brain Injury

T. I. Borshchikova[1], N. N. Yepifantseva[1,3], Yu. A. Churlyaev[1], N. V. Nikiforova[2], Ya. A. Zhukova[3], A. I. Pirogova[3], Ye. A. Nikitina[3], A. V. Yekimovskikh[3]

[1] Branch of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences;
[2] Novokuznesk State Institute for Postgraduate Education of Physicians, Federal Agency for Health Care and Social Development;
[3] Town Clinical Hospital One, Novokuznetsk

Цель исследования. **Для углубления представлений о функционировании системы фактора Хагемана изучена динамика и взаимосвязи контактных факторов, их ингибиторов с глобальными показателями гемокоагуляции, фибринолиза и реактантами воспаления в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ).** ***Материал и методы.*** **Обследовано 113 больных с ТЧМТ с 1-х по 21-е сутки заболевания. Средняя степень утраты сознания по шкале ком Глазго — 6,8±0,25 баллов. Контрольную группу составили 23 здоровых человека. Определяли активность контактных факторов (прекалликреина, высокомолекулярного кининогена, факторов XII, XI), их ингибиторов (суммарную активность системы протеина С, активность и количество антитромбина III, С1-ингибитора эстеразы, α_1-антитрипсина, α_2-антиплазмина, α_2-макроглобулина), показатели системы гемостаза (фибринолитическую активность крови эуглобулиновым методом, фактор XII-калликреин-зависимый фибринолиз, стрептокиназо-индуцированный фибринолиз с расчетом индекса резерва плазминогена, АЧТВ, фибриноген, Д-димер, РФМК), воспалительные реактанты (С-реактивный белок, IL1β, IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12p70, TNFα, IFNγ).** ***Результаты.*** **Выявлено, что в остром периоде ТЧМТ наблюдается выраженный дефицит и дисбаланс контактных факторов, а так же их физиологических ингибиторов. При ТЧМТ прекалликреин, а не фактор XII играет центральную роль в функционировании системы контактных факторов в силу воспалительного ингибирования синтеза фактора Хагемана, что нарушает его ключевую роль в реакциях контактной активации протеолитических систем гомеостаза. Из рассмотренных систем, активация которых связана с контактными факторами, в наибольшей мере изменяется функционирование внутреннего механизма фибринолиза, при этом внутренний путь активации гемокоагуляции остается практически интактным. В условиях развития воспалительной реакции после ТЧМТ нарушаются «нормальные» взаимоотношения белков системы фактора Хагемана. Среди причин снижения уровня контактных факторов и ряда их ингибиторов одновременно с механизмом потребления, выявлена значимая роль воспалительного ингибирования цитокинами, наибольшее значение из которых имел IL12p70.** ***Ключевые слова:*** **тяжёлая черепно-мозговая травма, система фактора Хагемана, антипротеазы, воспаление, цитокины.**

Objective: **to study the time course of changes and an association of contact factors and their inhibitors with the global values of hemocoagulation, fibrinolysis, and inflammatory reactants in acute severe brain injury (SBI) in order to deepen notions of Hageman factor system functioning.** ***Subjects and methods.*** **One hundred and thirteen patients with SBI were examined on 1 to 21 days of injury. The level of unconsciousness averaged a Glasgow coma score of 6.8±0.25. A control group included 23 healthy individuals. The investigators determined the activity of contact factors (prekallikrein, high-molecular-weight kininogen, factors XII, XI) and their inhibitors (total activity of the protein C system, the activity and quantity of antithrombin III, C1 esterase inhibitor, α_1-antitrypsin, α_2-antiplasmin, α_2-macroglobulin), hemostatic parameters (blood fibrinolytic activity by an euglobulin test; factor XII-kallikrein-dependent fibrinolysis, streptokinase-induced fibrinolysis by calculating the plasminogen reserve index, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, D-dimer, and soluble fibrin monomer complexes), and inflammatory reactants (C-reactive protein, IL1β, IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12p70, TNF-α, and IFN-γ).** ***Results.*** **The acute period of SBI was marked by significant deficiency and imbalance of contact**

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Чурляев Юрий Алексеевич
E-mail: gunii@kuz.ru

factors and their physiological inhibitors. In SBI, prekallikrein rather than factor XII plays a central role in the function of the contact factor system due to inflammatory inhibition of Hageman factor synthesis, which disturbs its key role in the reactions of contact activation of homeostatic proteolytic systems. Out of the considered systems, the activation of which is associated with contact factors, the function of the internal mechanism of fibrinolysis is largely changed; at the same time the internal hemocoagulation activation pathway remains virtually intact. When an inflammatory reaction develops after SBI, normal Hageman factor system protein relationships are impaired. There is the inflammatory inhibition by cytokines, including IL12p70 that is of the greatest importance, which plays a significant role in reducing the level of contact factors and a number of their inhibitors. *Key words:* severe brain injury, Hageman factor system, antiproteases, inflammation, cytokines.

Для острого периода тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ) характерна одновременная активация-дисфункция протеолитических систем крови и тканей [1, 2]. В эту активацию вовлечены системы свертывания крови, фибринолиза, комплемента, калликреин-кининовая, ренин-ангиотензиновая. Практически все эти системы имеют общий путь начальной регуляции через активацию или ингибирование группы контактных факторов: прекалликреина (ПК), высокомолекулярного кининогена (ВМК), фактора Хагемана (ФXII), фактора XI (ФXI). Функционирование контактных факторов настолько тесно сопряжено, что их объединяют в единую систему фактора Хагемана (СФХ) или систему контактных факторов, активность белков которой контролируется группой ингибиторов сериновых протеаз крови, важнейшими из которых являются: С1-ингибитор эстеразы (С1-И), α_2-макроглобулин (α_2-МГ), антитромбин III (АТ III), активированные белки системы протеина С (АПС), α_1-антитрипсин (α_1-АТ), α_2-антиплазмин (α_2-АП) [3]. В последние годы изучаются новые роли контактных факторов, их ингибиторов в физиологических и патологических процессах, в частности при воспалительных реакциях различной этиологии. Установлены возможности альтернативной «неконтактной» активации СФХ, участие эндотелия, тромбоцитов и лейкоцитов в патологических реакциях этой системы, так же исследуются пути коррекции ее недостаточности или гиперфункции [3—7]. Для углубления представлений о функционировании системы фактора Хагемана в остром периоде ТЧМТ целесообразным представляется изучение динамики и взаимосвязей контактных факторов, их ингибиторов с глобальными показателями гемокоагуляции, фибринолиза и реактантами воспаления.

Материалы и методы

Основную группу составили 113 больных с ТЧМТ в возрасте 17—67 лет (средний возраст 40,1±3,5 лет), мужчин — 101 (89,4%), женщин — 12 (10,6%). У 54-х (47,8%) больных травма была закрытой и у 59-и (52,2%) — открытой. В структуре внутричерепных повреждений наблюдались ушибы головного мозга тяжелой степени у 47-и больных (41,6%), диффузные аксональные повреждения у 2-х (1,8%), внутричерепные гематомы на фоне ушиба головного мозга средней и тяжелой степени у 64-х (56,6%). Среди гематом были выявлены: субдуральные — у 21-го (18,6% от общего числа пациентов), внутримозговые — у 17-и (15,0%), эпидуральные — у 8-и (7,1%) и множественные — у 18-и (15,9%) пострадавших. Тяжесть травмы оценивали в соответствии с «Классификацией черепно-мозговой травмы», для оценки состояния сознания использовали шкалу ком Глазго (ШКГ) [8]. При поступлении степень утраты сознания по ШКГ в среднем по группе была 6,8±0,3 баллов. Изолированная ТЧМТ отмечена у 78-и (69,0%), сочетанная и комбинированная — у 35-и (31,0%) больных. Больным со сдавлением головного мозга (71,4% случаев) проводили оперативные вмешательства, направленные на удаление внутричерепных гематом, очагов размозжения мозга и других причин компрессии. Консервативное лечение применялось у пациентов с ушибом головного мозга. Комплекс лечения включал в себя общие мероприятия, направленные на искусственное поддержание функции жизненно важных органов и систем (дыхания, кровообращения, метаболизма) и специфические, направленные на защиту головного мозга, нормализацию его кровообращения, гематоэнцефалического барьера, метаболизма и ликвороциркуляции, внутричерепной гипертензии.

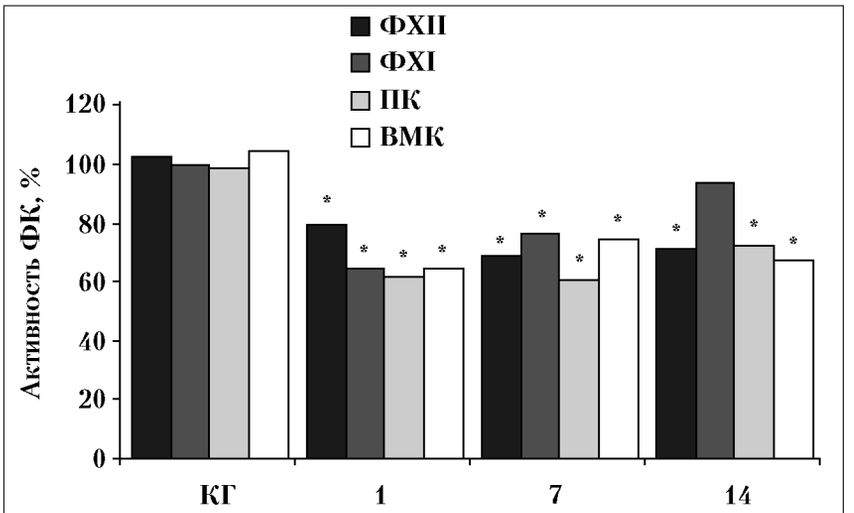
Инфузионно-трансфузионная терапия предполагала соблюдение принципов: нормоосмии (280—320 мосмоль/л), нормогликемии (4,4—6,6 ммоль/л), нормонатриемии (140—145 ммоль/л) и нормокалиемии (3,5—5,5 ммоль/л) в крови. Проводили энтеральное питание смесью «Нутризон». Уровень центрального венозного давления поддерживали не менее 8 мм вод. ст., а диурез не менее 1 мл/кг/час. Кислородную емкость крови поддерживали на нормальном уровне — гемоглобин не ниже 100 г/л, количество эритроцитов — $3{,}0\times10^9$/л, гематокрит — 0,3. В зависимости от уровня коагуляции крови с 1—2-х суток применяли гепарин (80—100 ЕД/кг/сут) или фраксипарин (0,3—0,6 мл/сут) в сочетании с пентоксифиллином (300—400 мг/сут), гидроксиэтилированными крахмалами III поколения (10—30 мг/кг/сут) и при необходимости свежезамороженной плазмой (250—500 мл/сут).

Проводилось комплексное обследование больных, включающее в себя клиническую оценку неврологического статуса, рентгенологические исследования (компьютерная томография), биохимические исследования крови, в том числе исследование КЩС и газов крови, показатели стандартной коагулограммы (АЧТВ, ПТВ, количество фибриногена), общий анализ крови, ликвора, мочи и др.

Контрольную группу (КГ) составили 23 здоровых человека, 20 (87%) мужчин и 3 (13%) женщины; средний возраст по группе — 40,3±2,9 лет. Основная и контрольная группа были сопоставимы по полу, возрасту. Критерием не включения в группы было наличие в анамнезе геморрагических и тромботических заболеваний.

У 113-и пациентов основной и 23-х человек контрольной группы в 1-е, 4-е (3—5), 7-е (6—8), 10-е (9—11), 14-е (12—16) и 21-е (18—24) сутки острого периода ТЧМТ в плазме цитратной крови (3,8% цитрат натрия и венозная кровь из периферической вены в соотношении 1:9) определялись общепринятыми методами спонтанная фибринолитическая активность эуглобулиновым методом (ЭГФ), активность внутреннего фактор XII-калликреин-зависимого механизма фибринолиза (XII-КЗФ), стрептокиназо-индуцированный фибринолиз с расчетом индекса резерва плазминогена (ИРП), суммарная активность системы протеина С (АПС), активность антитромбина III (АТ III) (наборы фирмы «Технология-Стандарт», Россия). Ингибиторы фибринолиза: С1-ингибитор эстеразы (С1-И), α_1-антитрипсин (α_1-АТ), α_2-антиплазмин (α_1-АП), α_2-макроглобулин (α_2-МГ), антиген антитромбина III (Аг-АТ III) и С-реактивный белок (СРБ) определяли в сыворотке венозной крови иммунотурбидиметрическим методом с использованием наборов реагентов фирм «Spinreact» (Испания) или «Labsistems» (Финляндия) на автоматическом биохимическом анализаторе «KONELAB 60i» («Termoelectron», Финляндия).

Исходя из задач исследования у 14-и человек контрольной группы и 16-и больных основной группы на 1-е, 7-е и 14-е сутки дополнительно определяли:



Показатель	ФХП	ФХI	ПК	ВМК	Сумма ФК
ФХП	1,000	0,262 p=0,178	0,488 p=0,008	0,206 p=0,293	0,723 p<0,001
ФХI	0,262 p=0,178	1,000	0,546 p<0,003	0,507 p=0,006	0,824 p<0,001
ПК	0,488 p=0,008	0,546 p=0,0027	1,000	0,650 p<0,001	0,926 p<0,001
ВМК	0,206 p=0,293	0,507 p=0,006	0,650 p<0,001	1,000	0,701 p<0,001

Рис. 1. Динамика контактных факторов и их корреляции в остром периоде ТЧМТ.
Примечание: ПК — прекалликреин; ВМК — высокомолекулярный кининоген; ФХII — фактор XII; ФХI — фактор XI; сумма ФК — сумма факторов контакта (ПК+ВМК+ФХII+ФХI).

I. Активность контактных факторов ПК, ВМК, ФХII и ФХI — клоттинговым методом с использованием теста «активированного частичного тромбопластинового времени» (АЧТВ) на автоматическом коагулометре «ACL 7000» («Instrumentation Laboratory», США). При определении факторов использовали дефицитные или иммуноистощенные плазмы с коагуляционной активностью менее 1% по соответствующему фактору («Technoclon», Австрия). В контрольной группе активность всех контактных факторов колебалась в диапазоне от 70 до 130%. Рассчитывали сумму факторов контакта (сумма ФК, %) = ПК + ВМК + ФХII + ФХI;

II. Уровень Д-димера — методом твердофазного ИФА (тест-системы «Technoclon», Австрия) с использованием комплекта оборудования для ИФА («BioRad», США);

III. Цитокины сыворотки крови IL1β, IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12p70, TNFα, IFNγ — методом иммунофлуориметрии на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC 500» («Beckman Coulter», США) с использованием реагентов фирмы «Bender Medsystems» (Австрия).

Для анализа результатов использовалась программа «STATISTICA 7». Проверку нормальности распределения производили методами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. При нормальном распределении показателей достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента, при ненормальном — по непараметрическому U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни; для выявления интенсивности связей между показателями использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмана.

Результаты и обсуждение

Изменение контактных факторов в остром периоде ТЧМТ и матрица их корреляционных связей представлены на рис. 1. С 1-х суток отмечалось значимое снижение всех факторов, причем прекалликреин, высокомолекулярный кининоген и фактор XI были снижены равномерно в среднем в 1,6 раза (p<0,001), в то же время фактор XII снижался в меньшей степени — в 1,3 раза (p<0,05). Динамика изученных факторов имела некоторые отличия. Дефицит фактора Хагемана на 7—14-е сутки становился глубже и был в среднем на 40% ниже показателя контрольной группы (p<0,01). Фактор XI повышался относительно 1-х суток на 7-е сутки и далее на 14-е сутки, становясь достоверно выше его исходных значений (p<0,02). При этом, если в 1-е сутки ФХI был ниже средних значений контрольной группы у 100% больных и у 87% из них выходил за диапазон физиологической нормы (70—130%), то на 14-е сутки у половины пациентов он был выше значений контрольной группы и только в 30% ниже диапазона нормы. Прекалликреин оставался сниженным на 7-е сутки в 1,6 раза относительно показателя контрольной группы (p<0,001) и имел тенденцию к повышению на 14-е сутки, оставаясь ниже диапазона нормы в 64% случаев. Уровень ВМК был достоверно ниже показателя контрольной группы весь период наблюдений с минимальными значениями в 1-е сутки. В 1-е сутки он был меньше диапазона нормы у 87% больных, на 7- и 14-е сутки — у 66,7 и 63,6%, соответственно. Проведя частотный анализ суммы уровней контактных факторов, было выявлено, что в 1-е сутки их общая недостаточность, превышающая 25% от показателя контрольной группы, наблюдалась у 75%, на 7- и 14-е сутки — у 67 и 55% больных, соответственно. При средних значениях суммы белков СФХ в группе контроля — 402,6±9,6% (с диапазоном колебаний от 346 до 510%), у больных с ТЧМТ она составляла на этапах исследования в среднем 267,8±18,9% (p<0,001 к показателю контрольной группы); 279,2±23,7% (p<0,001); 302,7±37,4% (p<0,02) (варьируя от 65 до 516%), что свидетельствовало о наиболее выраженном суммарном дефиците контактных факторов в 1-ю неделю заболевания. Анализ сопряженности между белками системы фактора Хагемана в остром периоде после ТЧМТ выявил наибольшее количество связей у прекалликреина, который достоверно коррелировал с факторами XII, XI и ВМК (r=+0,488; r=+0,546; r=+0,650, соответственно при p<0,003). По две значимых связи выявлено для ВМК (с ФХI и ПК) и ФХI (с ПК и ВМК), в то время как фактор XII показал

Показатели системы гемостаза у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой в остром периоде заболевания

Показатель	Контрольная группа	Значения показателей ($\bar{X}\pm m$) на этапах исследования, сутки					
		1-е	4-е	7-е	10-е	14-е	21-е
АЧТВ, сек	37,9±0,4	37,9±1,0	37,6±1,1	37,2±0,9	37,8±1,1	35,8±0,9	39,8±1,9
Фибриноген, г/л	3,14±0,12	3,89±0,15##	5,5±0,67##	5,84±0,26##	6,58±0,24##	7,67±0,88##	5,96±0,40##
РФМК, мг/дл	0,78±0,49	11,17±1,23##	16,44±1,95##	16,52±1,32##	18,62±1,32##	16,21±1,24##	14,87±2,37##
Д-димер, нг/мл	52±8	1534±447##	594±84##	987±125##	3367±996##	1101±192##	—
ЭГФ, мин	177,9±8,9	267,8±13,9##	309,1±10,6##	326,1±11,7##	312,2±15,2##	346,6±7,8##	322,5±29,9##
XII-КЗФ, мин	8,2±0,3	114,2±19,0##	179,9±16,7##	222,0±13,8##	146,8±29,8##	173,0±16,5##	203,8±27,0##
ИРП, %	100,9±2,5	91,8±2,9**	86,8±2,0##	80,2±4,7##	76,2±5,0##	81,9±4,1##	70,3±8,3##
С1-И, мг/дл	25,1±0,7	16,5±0,8##	19,3±0,8##	22,4±0,8#	22,6±1,4##	22,2±0,9#	22,13±1,2*
α_2-АП мг/дл	6,10±0,42	6,84±0,48	8,15±0,51#	8,87±1,15*	8,94±0,54##	8,63±0,95**	7,61±1,35
Активность АТ III, %	104,2±2,4	88,7±5,5#	104,0±4,9	93,6±9,4	112,4±6,9	112,2±5,1	104,2±5,8
Аг-АТ III, мг/дл	25,8±0,4	22,0±1,9	21,5±2,0*	21,4±2,1*	19,0±3,2*	20,0±2,2**	—
АПС, отн.	0,95±0,04	0,77±0,03##	0,82±0,02#	0,81±0,02#	0,82±0,03**	0,79±0,02##	0,77±0,05#
α_2-МГ, мг/дл	162,8±3,4	141,9±7,8#	130,6±6,8##	149,5±9,2	150,6±9,6	155,9±8,9	165,0±16,8
α_1-АТ, мг/дл	143,5±3,7	182,7±8,3##	205,4±9,2##	216,8±11,6##	234,6±13,5	240,7±11,1##	251,5±21,5##
СРБ, мг/л	1,4±0,3	83,0±10,0##	99,3±9,3##	107,1±10,5##	99,6±11,3##	96,4±12,1##	88,9±14,8##

Примечание. Статистическая достоверность различий в сравнении с группой контроля: * — $p<0,05$; ** — $p<0,02$; # — $p<0,01$; ## — $p<0,001$.

связь только с прекалликреином. Оценка корреляции суммы контактных факторов выявила сильную положительную связь с отдельными факторами с выраженностью сопряженности, снижающейся соответственно: прекалликреин → фактор XI → фактор XII → высокомолекулярный кининоген.

Фактор XII традиционно считают ключевым фактором внутренних путей активации гемокоагуляции и фибринолиза, играющего так же определяющую роль в активации калликреин-кининовой системы плазмы крови и развитии воспалительных реакций [4, 5, 9]. Однако, недавними экспериментальными исследованиями установлено, что активация ФXII — не единственный путь активации калликреин-кининовой системы [10]. Наше исследование показало, что при ТЧМТ именно прекалликреин, а не фактор Хагемана играет центральную роль в функционировании системы контактных факторов. Так, при оценке связей контактных факторов с воспалительными маркерами и реактантами в основной группе, мы выявили, что из всех белков СФХ только фактор XII можно с полным основанием отнести к «отрицательным» белкам острой фазы воспаления. Выявлены его значимые связи с рядом провоспалительных (IL12p70, IL5) и антивоспалительных (IL10) цитокинов и С-реактивным белком (IL12p70-ФXII: r=-0,447 при p=0,033; IL5-ФXII: r=+0,439 при p=0,036; IL10-ФXII: r=+0,459 при p<0,028; СРБ-ФXII: r=-0,460 при p=0,016). В нашем исследовании СРБ был выше уровня нормы в 8—50 раз уже с 1-х суток и далее, и имел значимые связи с IL12p70 (r=+0,390 при p<0,05) и TNFα (r=+0,172 при p<0,05). По-видимому, воспалительное ингибирование синтеза фактора Хагемана нарушает его ключевую роль в реакциях контактной активации протеолитических систем гомеостаза при ТЧМТ.

Установлено, что острый период ТЧМТ закономерно сопровождается развитием внутрисосудистого свертывания крови с дисбалансом различных звеньев системы гемостаза, в том числе нарушением как внешнего, так и внутреннего механизмов фибринолиза [11, 12]. Динамика связанных с контактными факторами показателей коагуляционного гемостаза, фибринолиза, их ингибиторов и СРБ представлена в таблице. Согласно современным представлениям о физиологии системы фактора Хагемана, активация ее белков непосредственно запускает внутренние пути систем свертывания и фибринолиза крови. Глобальными лабораторными показателями, отражающими функциональное состояние этих путей, являются тесты АЧТВ и XII-КЗФ. У больных основной группы нами не выявлено значимых изменений средних значений АЧТВ с 1-х по 21-е сутки периода наблюдений и корреляции этого показателя с контактными белками, подтверждая данные многочисленных исследований о незначительном влиянии факторов контакта на коагуляционный гемостаз [13, 14]. Лабораторный маркер внутреннего механизма фибринолиза — XII-КЗФ — удлинялся в 14 и более раз с 1-х суток и далее на этапах исследования. Динамика этого показателя имела явный двухволновый характер с наиболее выраженной недостаточностью внутреннего механизма фибринолиза на 7- и 21-е сутки и временной «относительной» активацией на 10-е сутки. Механизм этой активации не ясен, но его неслучайность подтверждалась динамикой ряда связанных с фибринолизом показателей — максимальным повышением в этот период маркеров тромбинемии-плазминемии Д-димера и РФМК, низкими значениями ИРП. Корреляционный анализ показателя XII-КЗФ с уровнями контактных факторов выявил достоверную средней степени отрицательную сопряженность с суммой факторов контакта (рис. 2), преимущественно за счет связи с ПК (r=-0,569 при p=0,002) и ВМК (r=-0,434 при p=0,021). Как парадокс, при ТЧМТ не выявлено значимой связи XII-КЗФ с фактором Хагемана (r=-0,277 при p=0,125).

Показатель спонтанного эуглобулинового фибринолиза, в большей мере отражающий внешний, зависимый от тканевых активаторов путь системы плазмина, в основ-

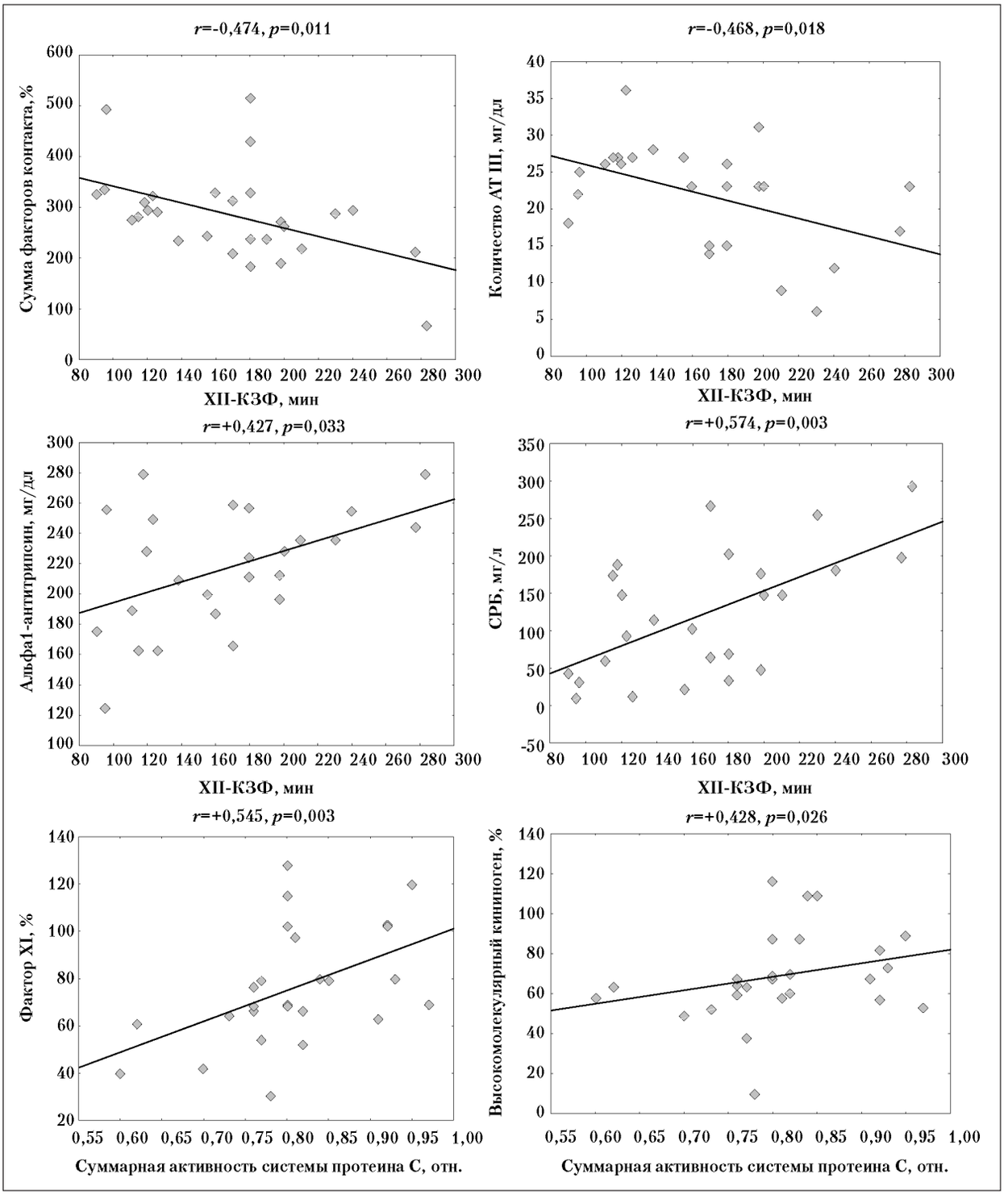


Рис. 2. Корреляционные связи контактных факторов, XII-КЗФ, ингибиторов протеолиза и С-реактивного белка в остром периоде ТЧМТ.

ной группе также был значительно удлинен, и это удлинение, как ожидалось, не было зависимо от уровней контактных факторов (ЭГФ-сумма ФК: r=-0,037 при p=0,850). Степень депрессии ЭГФ на этапах исследования варьировала от 1,5 до 1,9 раз относительно средних значений показателя контрольной группы. С 1-х суток после ТЧМТ был значимо снижен индекс резерва плазминогена по сравнению с таковым контрольной группы, оставаясь при этом в пределах диапазона нормальных значений (80—120%) с 1-х по 4-е сутки у 74% пациентов. Далее ИРП сильно варьировал и с 7-х суток был меньше нижнего диапазона нормы более чем у 70% больных. Интересным представляется выявленное в нашем исследовании отсутствие влияния уровня плазминогена на активность XII-КЗФ (r=+0,021 при p=0,797), в то время как с ЭГФ такая связь была установлена (r=-0,304 при p<0,05).

Несмотря на выраженную недостаточность внутреннего и внешнего путей фибринолиза, выявляемую в тестах *in vitro* у больных с ТЧМТ, маркер внутрисосудистой фибринации и фибринолизиса Д-димер был повышен у 100% пациентов, превышая средние значения показателя контрольной группы в 30—60 раз с 1-х по 14-е сутки острого периода заболевания. Маркер тромбинемии — РФМК так же был значимо выше показателя контрольной группы весь период наблюдений, увеличиваясь с 1-х суток до максимальных значений на 10-е сутки, и далее имел тенденцию к снижению. Этот показатель имел одинаковую положительную средней степени корреляцию с ЭГФ (r=+0,385 при p<0,001) и XII-КЗФ (r=+0,392 при p<0,001), но в наибольшей степени был связан с уровнем фибриногена (r=+0,471 при p<0,001), который динамично повышался с 1-х суток по 14-е сутки, когда превышал контрольные значения более чем в 2,4 раза. Оба механизма фибринолиза имели достоверную, но слабую сопряженность с уровнем фибриногена (ФГ-ЭГФ: r=+0,239 при p=0,003; ФГ-XII-КЗФ: r=+0,280 при p=0,004) и, как ни парадоксально, не имели значимых связей с уровнем Д-димера. Из всех изученных показателей Д-димер был достоверно отрицательно сопряжен только с фактором Хагемана (Д-димер-ФXII: r=-0,389 при p=0,045).

Динамика ингибиторов коагуляции и фибринолиза различалась на этапах исследования. Количество С1-ингибитора эстеразы при ТЧМТ было сниженным весь период наблюдений с минимальным значением в 1-е сутки, в последующем он повышался к 7-м суткам до нижнего диапазона нормы и оставался таковым до конца исследования. Установлена важная роль С1-И в регулировании сосудистой проницаемости и подавлении воспалительных реакций. Его антивоспалительные функции имеют сложные механизмы, включая ингибирование протеаз системы комплемента (C1r, C1s, MASP2), контактных факторов (ФXII, ФXI, плазменный калликреин), фибринолитических протеаз (плазмин, тканевой активатор плазминогена) [15]. Достоверные связи С1-И с IL6 и СРБ в нашем исследовании (r=-0,408 при p<0,001 и r=+0,210 при p<0,01, соответственно) свидетельствовали о его несомненной связи с воспалением в остром периоде после травмы — в течение 3-х недель посттравматического периода потребление С1-И превышало скорость его синтеза в гепатоцитах и моноцитах.

С1-ингибитор эстеразы традиционно относят к важнейшим ингибиторам системы фактора Хагемана [16, 17]. Однако, нами не выявлено при ТЧМТ корреляции этого ингибитора ни с одним из контактных факторов (коэффициенты корреляции С1-И с факторами XII, XI, ПК и ВМК составили соответственно +0,080; +0,281; -0,023; +0,037 при p>0,05), но в то же время установлена его связь с показателями, отражающими активность внешнего и внутреннего механизмов фибринолиза (С1-И-ЭГФ: r=+0,496 при p=0,014; С1-И-XII-КЗФ: r=+0,469 при p=0,021). Вероятно, эта связь обусловлена непосредственным антиплазминовым действием С1-ингибитора эстеразы, на что указывала его отрицательная сопряженность с уровнем плазминогена (С1-И-ИРП: r=-0,282 при p=0,002). Отсутствие связей С1-ингибитора эстеразы с факторами контакта подтверждало нарушение «нормальных» взаимоотношений белков системы фактора Хагемана в условиях развивающейся воспалительной реакции при ТЧМТ [12, 18, 19].

У больных в критических состояниях снижение уровня и активности антитромбина III и белков системы протеина С, формирующих системы основных физиологических антикоагулянтов крови, сопряжено с развитием ДВС-синдрома и неблагоприятным исходом [11, 20]. Наибольшее число исследований отражают изучение активности этих систем, однако появившаяся в последние годы возможность количественной оценки этих показателей предпочтительнее в условиях интенсивной терапии с применением антикоагулянтов, способных существенно изменять определяемую активность антитромбина III и системы протеина С.

Количество антигена АТ III у больных с ТЧМТ было сниженным с 4-х по 14-е сутки, в то время как его активность с 4-х суток не отличалась от показателя контрольной группы. Частотный анализ количества АТ III выявил его уменьшение ниже диапазона нормы в 1-е сутки у 50%, на 7-е сутки у 36% и на 14-е сутки у 40% больных, в то же время с 4-х суток увеличивалось количество больных с выраженным (менее 12 мг/дл) снижением АТ III. Необходимо отметить, что во все сроки исследования в 28—60% наблюдений уровень АТ III не отличался от нормального диапазона и был ассоциирован с ранним назначением антикоагулянтов и/или переливаниями свежезамороженной плазмы. Активность АТ III была больше 100% с 1-х по 7-е сутки у трети пациентов, а с 10-х суток более чем у 50% больных. Расхождение средних значений количества и активности АТ III при ТЧМТ было связано с проводимой у 85% больных с 1—2-х суток антикоагулянтной терапии гепарином и/или фраксипарином. Как и С1-ингибитор эстеразы, уровень АТ III не коррелировал с активностью контактных факторов, но в отличие от него, имел не положительную, а отрицательную сопряженность с активностью внутреннего и внешнего механизмов фибринолиза (Аг-АТ III-ЭГФ: r=-0,433 при p=0,034; Аг-АТ III-XII-КЗФ: r=-0,476 при p=0,019). Установлено так же, что при определении не активности, а количества АТ III, он проявлял черты негативного реактанта острой фазы воспаления, отрицательно коррелируя с уровнем С-реактивного белка (r=-0,395 при p=0,050). Ингибирующее влияние на синтез АТ III из всех изученных цитокинов оказывал один из важнейших провоспалительных цитокинов, маркер воспалительной активации макрофагов IL12p70 (r=-0,530 при p<0,01).

Суммарная активность системы протеина С, другой важнейший антикоагулянтной системы крови, была значимо снижена весь период наблюдений, причем в 1-е сутки отмечалось снижение относительно диапазона нормы у 30%, а далее в среднем — у 20% пациентов. На

этапах исследования частота сниженных значений АПС относительно среднего уровня контрольной группы варьировала от 78 до 95%, в то время как частота превышающих значений — от 5 до 22%. Оценка связей АПС с контактными факторами показала средней степени положительную сопряженность с факторами XI и ВМК (рис. 2). Известно, что протеин С может оказывать активирующее влияние на фибринолиз, путем инактивации ингибиторов активаторов внутреннего и внешнего путей системы плазмина. Однако, в остром периоде ТЧМТ в условиях сниженной активности системы протеина С, ее влияние на внешний и внутренний механизмы фибринолиза практически отсутствовало (АПС-ЭГФ: r=-0,071; АПС-XII-КЗФ: r=-0,099 при p>0,05) [13, 21]. Не удивительно, что показатель АПС, отражающий не количество, а общую активность группы белков, не имел корреляционных связей с белками острой фазы воспаления (СРБ, С1-И, α_1-АТ, α_2-АП, α_2-МГ). В то же время, в основной группе для показателя АПС было выявлено наибольшее среди других ингибиторов количество связей с цитокинами крови, а именно с IL6 (r=-0,447 при p<0,001), с IL12p70 (r=-0,466 при p=0,029), с IL10 (r=-0,471 при p=0,027), с INFγ (r=-0,501 при p=0,021), причем высокие значения цитокинов были ассоциированы с низкими значениями АПС. Наши данные согласуются с данными многочисленных исследований о роли системы протеина С при патологии. Нарушение активации этой системы закономерно возникает под влиянием повышенных уровней IL1β, IL6, IL8, TNFα, при эндотоксемии, гипоксии. В свою очередь установлено, что активированный протеин С может блокировать активацию транскрипции NF каппа В, а следовательно и продукцию провоспалительных цитокинов [22].

Изменение уровней α_1-антитрипсина и α_2-антиплазмина существенно отличалась от динамики описанных выше антипротеаз, отражая типичное для α_1- и α_2-белков крови увеличение при реакциях острой фазы воспаления. Концентрация α_1-АТ значимо повышалась с 1-х суток и далее, а концентрация α_2-АП была достоверно увеличена с 4-х по 14-е сутки. Повышенный в 1-е сутки α_1-антитрипсин в среднем в 1,3 раза, далее динамично возрастал, достигая максимальных значений к 21-м суткам исследования, когда его средняя концентрация превышала норму в 1,7 раза. Антиплазмин не имел четко выраженного пика повышения, его наиболее высокие значения регистрировались с 7-х по 14-е сутки. Интересным представляется выявленная общность динамики α_1-АТ и α_2-АП у больных основной группы по частотному анализу. В 1-е сутки превышение средненормальных значений для α_2-АП и α_1-АТ составляло 63,6 и 67,3%, соответственно, а с 10-х суток и далее — 100% для обоих белков. Их связь с воспалением подтверждалась наличием положительной корреляции с уровнем С-реактивного белка (α_1-АТ-СРБ: r=+0,351 при p<0,001; α_2-АП-СРБ: r=+0,308 при p<0,01). Важнейшая антипротеаза крови — α_1-антитрипсин, может тормозить активность тромбина, плазмина, калликреина, факторов Xa и XIa и других, но основной её функцией является нейтрализация нейтрофильной эластазы [13]. В нашем исследовании значимых связей α_1-АТ, как и связей α_2-АП с контактными факторами не было выявлено. В то же время установлено, что повышение α_1-АТ, как и СРБ, связано с удлинением XII-КЗФ, то есть с угнетением активности внутреннего механизма фибринолиза (рис. 2). Влияние α_1-антитрипсина на внешний механизм фибринолиза было менее выражено, чем на внутренний механизм, но достоверно — коэффициент корреляции α_1-АТ-ЭГФ составил r=+0,334 при p<0,001; связи же ЭГФ с СРБ не наблюдалось (r=+0,158 при p<0,072). Повышение уровня α_2-антиплазмина так же было связано с угнетением как внутреннего, так и внешнего механизмов фибринолиза (α_2-АП-XII-КЗФ: r=+0,443 при p<0,02; α_2-АП-ЭГФ: r=+0,508 при p<0,001). Вероятно, и α_1-антитрипсин, и α_2-антиплазмин влияют непосредственно на конечный этап фибринолиза, связывая непосредственно активный плазмин. Нами установлена корреляция этих белков с уровнем плазминогена в крови (α_1-АТ-ИРП: r=-0,239 при p<0,005; α_2-АП-ИРП: r=+0,345 при p<0,001). Связь α_1-антитрипсина с воспалением установлена в экспериментальных и клинических исследованиях. Его синтез индуцируется IL1β и IL6, в то же время α_1-АТ может стимулировать продукцию IL1β и антагониста рецептора IL1β мононуклеарами периферической крови [13, 21]. Значимая сопряженность α_1-АТ с провоспалительными цитокинами IL1β и IL6 в нашем исследовании наблюдалась, однако связь была слабой и отрицательной, отражая сложный характер взаимовлияний этих белков в остром периоде ТЧМТ (α_1-АТ-IL1β: r=-0,251 при p=0,011; α_1-АТ-IL6: r=-0,296 при p=0,003). Достоверных связей уровня α_2-антиплазмина с изученными цитокинами нами не было установлено.

Динамика α_2-макроглобулина, одного из основных «универсальных» ингибиторов, образующего комплексы с протеиназами всех классов (сериновыми, тиоловыми, кислыми, металлозависимыми), существенно отличалась от динамики других антипротеаз. В 1-е и особенно на 4-е сутки отмечалось достоверное снижение его уровня в крови. В последующем он повышался, достигая средненормальных значений после 14-х суток. Снижение α_2-МГ ниже средних значений контрольной группы наблюдалось в 1-е сутки у 70%, на 4-е сутки у 80% и на 21-е сутки у 47% пациентов. Несмотря на указания в литературе, что α_2-макроглобулин относится к главным ингибиторам кининообразующих ферментов, из всех контактных белков установлена положительная его связь только с фактором XI (r=+0,395 при p<0,05). Плазмин, наряду с другими активными протеиназами крови, так же относят к важнейшим лигандам α_2-макроглобулина. При связывании α_2-МГ со многими своими субстратами не происходит блокирования их биологического действия, оно либо частично ограничивается, либо напротив пролонгируется [13]. Нами не выявлено при ТЧМТ значимого влияния α_2-макроглобулина ни на внутренний, ни на внешний механизмы фибринолиза и его связи с уровнем плазминогена крови. Вероятно,

наблюдающаяся в первую неделю после травмы выраженная активация различных протеолитических систем крови и тканей, приводит к потреблению α_2-макроглобулина и активация гемокоагуляции и фибринолиза не являются ведущими механизмами в этом потреблении. Установлена слабая отрицательная значимая связь α_2-МГ с СРБ (r=-0,150 при p=0,035), но не выявлено связей ни с одним из рассматриваемых цитокинов. Известно, что α_2-МГ относится к реактантам острой фазы воспаления, его синтез в печени инициируется основными провоспалительными цитокинами. В то же время он является белком-переносчиком целого ряда цитокинов, модулирующим продолжительность их биологического действия [13, 21]. В условиях острого воспаления обусловленного ТЧМТ, сложный характер биологических реакций, участником которых становится α_2-макроглобулин, нарушает его нормальные связи со своими лигандами и регуляторами.

Заключение

Таким образом, в остром периоде ТЧМТ наблюдается выраженный дисбаланс контактных факторов и их физиологических ингибиторов. При ТЧМТ именно прекалликреин, а не фактор XII играет центральную роль в функционировании системы контактных факторов. Воспалительное ингибирование синтеза фактора Хагемана нарушает его ключевую роль в реакциях контактной активации протеолитических систем гомеостаза. В наибольшей мере из рассмотренных систем, активация которых связана с контактными факторами, изменяется функционирование внутреннего механизма системы плазмина, при этом внутренний путь активации гемокоагуляции остается практически интактным. Отсутствие связей С1-ингибитора эстеразы, антитромбина III, α_1-антитрипсина, α_2-антиплазмина с факторами контакта подтверждает нарушение «нормальных» взаимоотношений белков системы фактора Хагемана при ТЧМТ. Среди причин снижения уровня контактных факторов и ряда их ингибиторов одновременно с механизмом потребления, выявлена значимая роль воспалительного ингибирования цитокинами, наибольшее значение из которых имел IL12p70. Его связь с протеолитическими системами крови нуждается в дальнейших специальных исследованиях. Так же представляется актуальным дальнейшее изучение механизмов воспалительного ингибирования синтеза фактора XII и антитромбина III, белков системы протеина С, открывающего перспективы новых способов медикаментозной коррекции недостаточности этих белков. Выявленное нами негативное влияние группы цитокинов (IL6, IL12p70, IL10, INFγ) на активность системы протеина С в остром периоде ТЧМТ указывает на целесообразность изучения связей цитокинов с индивидуальными белками этой системы (протеин С, протеин S, тромбомодулин, ингибитор протеина С) для уточнения механизмов ее ингибирования в реакциях воспаления.

Литература

1. *Гомазков О. А., Мещеряков Г. Н.* Показатели «системы фактора Хагемана» в артериальной и венозной крови больных с тяжелой скелетной травмой. Патол. физиология и эксперим. терапия 1983; 1: 45—46.
2. *Zweckberger K., Plesnila N.* Anatibant, a selective non-peptide bradykinin B2 receptor antagonist, reduces intracranial hypertension and histopathological damage after experimental traumatic brain injury. Neurosci. Lett. 2009; 454 (2): 115—117.
3. *Яровая Г. А.* Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции (обзор). Вопросы медицин. химии 2001; 47 (1): 20—42.
4. *Müller F., Renné T.* Novel roles for factor XII-driven plasma contact activation system. Curr. Opin. Hematol. 2008; 15 (5): 516—521.
5. *Johne J., Blume C., Benz P. M. et al.* Platelets promote coagulation factor XII-mediated proteolytic cascade systems in plasma. Biol. Chem. 2006; 387 (2): 173—178.
6. *Bossi F., Fischetti F., Pellis V. et al.* Platelet-activating factor and kinin-dependent vascular leakage as a novel functional activity of the soluble terminal complement complex. J. Immunol. 2004; 173 (11): 6921—6927.
7. *Рябикина Е. В., Черногубова Е. А., Женило В. М., Микашинович З. И.* Оптимизация трансфузионной терапии при перитоните. Общая реаниматология 2009; V (1): 24—27.
8. *Коновалов А. Н., Лихтерман Л. Б., Потапов А. А.* Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. М.: Антидор; 1998. 1.
9. *Renné T., Gailani D.* Role of factor XII in hemostasis and thrombosis: clinical implications. Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. 2007; 5 (4): 733—741.
10. *Schmaier A. H.* Assembly, activation, and physiologic influence of the plasma allikrein/kinin system. Int. Immunopharmacol. 2008; 8 (2): 161—165.
11. *Павленко А. А., Епифанцева Н. Н., Чурляев Ю. А., Ситников П. Г.* Антитромботические механизмы в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы. Анестезиология и реаниматология 2004; 6: 29—31.
12. *Bäck J., Lang M. H., Elgue G. et al.* Distinctive regulation of contact activation by antithrombin and C1-inhibitor on activated platelets and material surfaces. Biomaterials 2009; 30 (34): 6573—6580.
13. *Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И.* Протеолиз в норме и при патологии. К.: Здоров'я; 1988.
14. *Воинов А. Ю., Голевцова З. Ш., Семченко В. В., Говорова Н. В.* Повреждение сосудистого эндотелия и нарушение системы гемостаза у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой. Омский научн. вестн. 2003; 24 (приложение): 76—80.
15. *Davis A. E., Mejia P., Lu F.* Biological activities of C1 inhibitor. Mol. Immunol. 2008; 45 (16): 4057—4063.
16. *Caliezi C., Wuillemin W. A., Zeerleder S. et al.* C1-esterase inhibitor: an anti-inflammatory agent and its potential use in the treatment of diseases other than hereditary angioedema. Pharmacol. Rev. 2000; 52 (1): 91—112.
17. *Долгов В. В., Шевченко О. П., Шарышев А. А., Бондарь В. А.* Турбидиметрия в лабораторной практике. М.: Реафарм; 2007.
18. *Гуманенко Е. К., Немченко Н. С., Бояринцев В. В. и соавт.* С-реактивный белок и цитокины при политравме. Общая реаниматология 2007; III (5—6): 19—23.
19. *Шевченко К. В., Четвертных В. А., Кравцов Ю. И.* Баланс цитокинов при тяжелой черепно-мозговой травме. Анналы неврологии 2009; 3 (2): 14—16.
20. *Непорада Е. Л., Воробьева Н. А., Недашковский Э. В.* Коррекция дефицита антитромбина III при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Общая реаниматология 2008; IV (5): 49—54.
21. *Назаров П. Г.* Реактанты острой фазы воспаления. СПб.: Наука; 2001.
22. *Бокерия Л. А., Климович Л. Г., Потехина А. В. и соавт.* Механизмы вовлечения ингибиторов свертывания в развитие воспалительной реакции и перспективные направления антикоагулянтной терапии. Клин. физиология кровообращения. 2004; 1: 46—55.

Поступила 11.02.10