
© Сторожук О.Б., Селезньова І.Б., Сторожук Л.О., Горницька О.В., Сторожук Б.Г., Сломінський А.Ю.

УДК: (612.115.12+616.153.962.4-008):616.61-008.64-036.17-78

Сторожук О.Б.², Селезньова І.Б.¹, Сторожук Л.О.¹, Горницька О.В.³, Сторожук Б.Г.², Сломінський А.Ю.³

1 Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (вул. Хмельницьке шосе, 104, м. Вінниця, Україна, 21029), 2 Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, кафедра внутрішньої медицини № 3, кафедра фізичного виховання та ЛФК (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018), 3 Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України (вул. Леонтовича, 9, м. Київ, Україна, 01601)

ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕАКТИВНІ ФОРМИ ПРОТРОМБІНУ ТА РІВЕНЬ ФІБРИНОГЕНУ, ЯК МАРКЕРИ ГІПЕРКОАГУЛЯЦІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК VД СТАДІЇ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЮТЬ НА ПРОГРАМНОМУ ГЕМОДІАЛІЗІ

Резюме. В роботі у 88 хворих, що лікуються гемодіалізом з приводу хронічної хвороби нирок (ХХН) VД стадії, проаналізовані деякі ланки гемостазу (фібриноген, протромбіновий індекс, екамуліновий індекс та їх співвідношення) та визначена

компонента із показників гемостазу, яка може слугувати маркером тромботичних ускладнень у даної категорії хворих.
Ключові слова: хронічна хвороба нирок, гемодіаліз, гемостаз, маркери гіперкоагуляції.

Вступ

Порушення в системі гемостазу є одним із основних ускладнень у хворих ХХН V Д ст., що перебувають на програмному гемодіалізі. Ці порушення призводять до розвитку тромбозів, тромбоемболій, оклюзій периферичних артерій, коронарного синдрому та цереброваскулярних ускладнень [1]. Процес внутрішньосудинного тромбогенезу, або тромбофілічний синдром, характеризується системною активацією зсідання крові [5, 6]. Тому виявлення ранніх та доступних біохімічних маркерів цих порушень покликано запобігти процесу генералізації тромбоутворення за рахунок своєчасної медикаментозної корекції.

Відомо, що за тромбофілічного стану в загальному кровотоці з'являється тромбін, який розщеплює протромбін з утворенням функціонально неактивної форми протромбіну (ФНФП) (протромбін I). Виявлення накопичення таких форм протромбіну можливе практично при порівнянні результатів протромбінового та екамулінового тестів. Екамулін - фермент активатор протромбіну, виділений із отрути ефи багатолускової, і, на відміну від тромбoplastину, який активує лише функціонально активний протромбін, екамулін здатен активувати як протромбін, так і його неактивні форми. При порівнянні екамулінового часу, представленого у вигляді екамулінового індексу (співвідношення часу зсідання плазми крові донорів та досліджуваної крові при проведенні коагулометричного варіанту тесту) з протромбіновим індексом, можливо встановити кількісні закономірності щодо вмісту ФНФП [3]. При накопиченні останніх в плазмі крові, екамуліновий індекс буде завжди вищий за протромбіновий. При цьому, якщо екамуліновий індекс вище протромбінового від 10 % до 20 %, то вміст неактивних форм протромбіну становить 1,2 мкг/мл, при 20-740 % він дорівнює 2,4 мкг/мл, а при 40-60 % - 3,6 мкг/мл (дані отримані на основі дослідження впливу препаратів протромбіну на час зсідання крові донорів [2, 4]. Відомо також, що пацієнти, які перебувають на гемодіалізі, мають підвищений рівень фібриногену. В системі зсідання крові останній займає особливе місце, так як є єдиним білком, що під дією тромбіну перетворюється у фібрин. Таким чином, при гіперкоагуляції весь каскад системи зсідання крові направлений на активацію перетворення протромбіну в тромбін, а фібриногену - у фібрин.

Мета дослідження - пошук ранніх доступних маркерів гіперкоагуляції у хворих, що перебувають на програмному гемодіалізі.

Матеріали та методи

Обстежено (за інформованої згоди) 88 хворих (36 жінок та 52 чоловіки) віком від 26 до 65 років, що перебувають на програмному гемодіалізі з приводу ХХН

V Д ст. на тлі хронічного гломерулонефриту. У хворих одночасно визначали рівень в плазмі крові фібриногену та протромбіновий і екамуліновий індекс. Збір крові донорів для одержання плазми крові брали натщесерце з ліктьової вени у вакутайнер без використання джгута та масажу області вени. У вакутайнері кров змішували з 3,8 % розчином цитрату натрію у співвідношенні 1:9. Осадження формених елементів крові проводили центрифугуванням протягом 10 хв. з прискоренням 1200-1400 г. Плазму крові (супернатант) переносили в пробірку Еппендорфа. Для визначення протромбінового часу у скляну конічну пробірку вносили 0,1 мл плазми крові та прогрівали 1 хв. при температурі 37°C. Після цього додавали 0,2 мл тромбoplastину з вмістом 12,5 мМ хлориду кальцію і визначали час зсідання плазми крові, помірно струшуючи пробірку на водяній бані при температурі 37°C. Протромбіновий індекс отримували із співвідношення протромбінового часу донора до часу пацієнта. Екамуліновий час визначали в тих же температурних умовах при додаванні до 0,1 мл плазми крові 0,1 мл 0,025 М хлориду кальцію та 0,1 мл екамуліну і визначали час зсідання плазми. Екамуліновий індекс отримували із співвідношення екамулінового часу донора до часу пацієнта.

Вміст фібриногену визначали спектрофотометрично при використанні тромбіноподібного ферменту анцистрона-Н, одержаного з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) [2]. У скляну пробірку поміщали 0,2 мл плазми і 1,7 мл 0,1 М фосфатного буфера, потім додавали 0,05 мл анцистрона-Н (6НН од/мл) і суміш ретельно перемішували скляною паличкою з притертою поверхнею, і пробірку ставили в термостат (37°C), залишаючи в ній паличку. Після 30 хв. інкубації утворений згусток фібрину накручували на паличку і віджимали рідину, натискаючи на стінки пробірки. В подальшому згусток декілька разів промивали в холодному розчині 0,15 М хлористого натрію (рідину видаляли з поверхні легким дотиком згустку до фільтрувального паперу). Згусток розчиняли в 5,0 мл 1,5 % розчину оцтової кислоти. Концентрацію протеїну в отриманому розчині спектрофотометрували при довжині хвилі 280 і 320 нм (поглинання при 320 нм визначається для розрахунку поправки на мутність розчину).

Вміст фібриногену в плазмі обчислювали за формулою:

$$\Phi = (E_{280} - E_{320}) \times 25,5/1,5, \text{ де}$$

Φ - концентрація фібриногену в плазмі, г/л;

25,5 - коефіцієнт для перерахунку вмісту фібриногену в зразку на його концентрацію в плазмі;

1,5 - коефіцієнт екстинції поглинання 1 % розчину фібрину в кислому середовищі при довжині хвилі 280 нм [2].

Результати. Обговорення

Як показали результати дослідження, в загальній групі хворих, що лікуються гемодіалізом, середні показники фібриногену складали $4,21 \pm 0,20$ г/л (N 2,5-3,0 г/л) та були достовірно вищі за норму ($p < 0,01$). Група хворих, у яких протромбіново-екамулінове співвідношення перевищувало 10 %, становила 33 % ($n=29$). Рівень фібриногену в цій групі залишався достовірно підвищеним ($p < 0,01$) та складав $4,30 \pm 0,14$ г/л. В той же час, в цій групі середнє значення екамулінового індексу достовірно перевищувало аналогічне значення протромбінового індексу на $38,05 \pm 2,77$ % ($p < 0,01$). Цей факт свідчить, що рівень накопичення ФНФП в плазмі крові значно зростає та відповідає значенням, вдвічі вищим за норму (2,4 мкг/мл проти 1,2 мкг/мл) ($p < 0,001$). Останнє може вказувати на високу вірогідність тромботичних ускладнень, так як присутність ФНФП пов'язана з підвищеною активністю системи зсідання крові [3]. Аналіз кореляційних зв'язків фібриногену з протромбіново-екамуліновим співвідношенням підтвердив їх високий прямий взаємозв'язок

($r=0,71$), що узгоджується з участю в коагуляційному каскаді як фібриногену, так і ФНФП.

Таким чином, як свідчать результати дослідження, окремо взяті показники як фібриногену, так і протромбінового індексу, не дозволяють в повній мірі характеризувати порушення рівноваги між про- та антикоагулянтною системами. На наш погляд, компонента, яка враховує рівень фібриногену та протромбіново-екамулінового співвідношення, може слугувати маркером ступеню порушення в системі гемостазу.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. ФНФП у хворих з ХХН V Д ст., що лікуються програмним гемодіалізом, значно перевищують нормальні показники у третини пацієнтів.

2. Всі хворі, що перебувають на гемодіалізі, мають достовірно вищі показники фібриногену.

Компонента, яка включає рівень фібриногену та протромбіново-екамулінове співвідношення, може слугувати маркером можливих тромботичних ускладнень.

Список посилань

1. Мельник, А. А. (2016). Система гемостаза и ее регуляция при нарушении функциональной способности почек. *Новости медицины и фармации в Украине*, 9 (583), 24-31.
2. Платонова, Т. Н., Заичко, Н. В., Чернышенко, Т. М., Горницкая, О. В. & Грищук, В. И. (2010). Оценка информативности и прогностической значимости традиционных скрининговых и дополнительных лабораторных тестов для диагностики тромбофилии. *Лабораторная диагностика*, 4 (54), 3-10.
3. Шевчук, С. В., Горницкая, О. В., Чернишенко, Т. М., Краснобрижа, Е. М., Корольова, Д. С., Чернишенко, В. О. & Платонова, Т. М. (2010). Комплексна діагностика тромбофілії за системного червоного вовчак. *Лабораторна діагностика*, 1(51), 3-8.
4. Волков, Г. Л., Платонова, Т. Н., Савчук, А. М., Горницкая, О. В., Платонова, Т. М. & Краснобрижа, Е. М. (2005). *Современные представления о системе гемостаза*. Киев: Наукова думка.
5. Sykes, T.C.F., Fegan, C., Masguara, D. (2000). Thrombophilia, polymorphisms, and vascular disease. *J. of Clinical Pathology: Molecular Pathology*, 53, 300-306.
6. Solymos, S. (2003). Risk factors thromboembolism: pathophysiology and detection. *CMLY*, 163 (8), 991-994.

Сторожук А.Б., Селезнёва И.Б., Сторожук Л.А., Горницкая О.В., Сторожук Б.Г., Сломинский А.Ю.

ФУНКЦИОНАЛЬНО НЕАКТИВНЫЕ ФОРМЫ ПРОТРОМБИНА И УРОВЕНЬ ФИБРИНОГЕНА КАК МАРКЕРЫ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ ХБП V Д СТАДИИ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

Резюме. В работе у 88 больных, которые лечатся гемодиализом по поводу хронической болезни почек (ХБП) V Д стадии, проанализированы некоторые звенья гемостаза (фибриноген, протромбиновый индекс, екамулиновый индекс и их соотношение) и определена компонента из показателей гемостаза, которая может служить маркером тромботических осложнений у данной категории больных.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, гемодиализ, гемостаз, маркеры гиперкоагуляции.

Storozhuk O.V., Selezneva I.B., Storozhuk L.O., Gornitskaya O.V., Storozhuk B.G., Slominsky A.Yu.

FUNCTIONALLY INACTIVE FORMS OF PROTHROMBIN AND FIBRINOGEN LEVEL AS MARKERS OF HYPERCOAGULATION IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE V D WHO UNDERGO PROGRAM HEMODIALYSIS TREATMENT

Summary. In this article, in 88 patients with chronic kidney disease (CKD) V D who undergo chronic dialysis treatment, some links of hemostasis (fibrinogen, prothrombin index, ecamulin index and their ratio) were analyzed and a component of hemostasis indicators that can serve as a marker of thrombotic complications in this category of patients was determined.

Key words: chronic kidney disease, hemodialysis, hemostasis, hypercoagulation markers.

Рецензент - д.мед.н., проф. Иванов В.П.

Стаття надійшла до редакції 07.08.2017 р.

Сторожук Олексій Борисович - асистент кафедри фізичного виховання та ЛФК Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; +38(098)7278938

Селезнёва Ірина Борисівна - к.мед.н., м.н.с. науково-дослідного інституту реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; +38(067)3019403

Сторожук Лариса Олександрівна - к.мед.н., провідний спеціаліст науково-дослідного інституту реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; +38(095)2089869

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Горницька Ольга Володимирівна - к.біол.н., ст. наук. співроб. Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України;
+38(050)5692388

Сторожук Борис Григорович - д.мед.н., проф. кафедри внутрішньої медицини №3 Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; +38(050)3133302

Сломінський Олександр Юрійович - к.біол.н., ст. наук. співроб. Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України;
+38(050)5692388
