

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(4)-20

УДК: 616.151.511:616.61-008.64-036.17-78

МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МАРКЕРІВ ГЕМОСТАЗУ ТА ПАРАМЕТРІВ ГЕМОСТАТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ТРОМБОТИЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ ХХН ВД СТАДІЇ

Сторожук О.Б.², Шевчук С.В.², Селезньова І.Б.¹, Сторожук Л.О.¹, Довгалюк Т.В.¹, Сторожук Б.Г.²

¹НДІ реабілітації осіб з інвалідністю Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Хмельницьке шосе, 104, м. Вінниця, Україна, 21029),

²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018),

Відповідальний за листування:
e-mail: storozhuk0323@gmail.com

Статтю отримано 20 серпня 2019 р.; прийнято до друку 23 вересня 2019 р.

Анотація. *Порушення у системі гемостазу хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН) ВД ст., що лікуються програмним гемодіалізом, пов'язані з високим тромботичним ризиком. Комплексні дослідження можливих причин та предикторів тромбофілій можуть поліпшити лікувальні та профілактичні заходи боротьби з тромботичними ускладненнями. Пошук же доступних способів прогнозування даних ускладнень є досить актуальним. Мета - розробити спосіб прогнозування розвитку тромботичних ускладнень у даній категорії хворих, який дозволяв би виявляти ступінь порушень гемостазу. Обстежено 88 пацієнтів ХХН ВД ст., які лікуються програмним гемодіалізом, у яких визначали фібринолітичний потенціал та рівень розчинного фібрину і Д-димера імуноферментним методом. Запропоновано використовувати розроблений фібринолітичний коефіцієнт (Фк) для прогнозування тромботичних ускладнень. Встановлено, що запропонований спосіб оцінки гемостазу за допомогою Фк дає можливість об'єктивно характеризувати стан коагуляційної ланки та може слугувати показником тромботичного ризику.*

Ключові слова: гемостаз, гемодіаліз, фібринолітичний коефіцієнт, тромботичний ризик.

Вступ

Відомо, що ризик виникнення тромботичних ускладнень у хворих з ХХН різко зростає у зв'язку з порушенням функціональних можливостей ушкоджених нирок підтримувати систему гомеостазу загалом і гемостазу зокрема [5, 6, 7]. За частотою розвитку ХХН гломеруло-нефрит посідає перше місце серед патологій нирок. Висока летальність при цій патології свідчить про неналежну ефективність превентивної терапії, не в останню чергу, внаслідок недостатнього обґрунтування механізмів розвитку коагулопатій та через відсутність єдиної точки зору на характер порушень гемокоагуляції і, зокрема, локального гемостазу. Існуючі на сьогодні в лікарнях лабораторні критерії, на основі яких можливо було б прогнозувати тромботичні ускладнення, є не завжди надійними. У зв'язку з цим комплексні дослідження можливих причин порушення процесу коагуляції і функціонування прокоагулянтних факторів дозволять поліпшити показники гемостазу та в цілому підвищити ефективність замісної терапії нирок. З метою прогнозування тромботичних ускладнень в клінічних умовах використовують різні біохімічні маркери. Одними із найперспективніших маркерів є одночасне визначення в плазмі крові розчинного фібрину та Д-димеру [3]. Однак, і даний метод не позбавлений недоліків, оскільки Д-димер не завжди є специфічним і може характеризувати не стільки процес тромбоутворення, скільки опосередковано вказувати на розщеплення фібрину і бути показником стану фібринолітичної ланки гемостазу. До того ж залишаються невідомими еквівалентні співвідношення розчинного фібрину та Д-димеру, при порушенні яких можуть відбуватись тромботичні ускладнення. В літе-

ратурі також представлені дані використання фібринолітичної складової у загальному гемостатичному потенціалі шляхом аналізу кривої залежності величини поглинання світла згустком від часу [4]. У даному випадку є невідомим, з яким компонентом коагуляційної ланки пов'язані зміни фібринолітичного потенціалу. Очевидно, що для клініки необхідний спосіб прогнозування можливих тромботичних ускладнень, який би дозволяв визначати еквівалентні співвідношення в системі зсідання та фібринолізу у хворих, що лікуються програмним гемодіалізом.

Мета роботи - розробити спосіб прогнозування розвитку тромботичних ускладнень у хворих ХХН ВД ст., що лікуються програмним гемодіалізом, який дозволяв би виявляти ступінь порушень динамічної рівноваги між коагуляційною та фібринолітичною ланками системи гемостазу.

Матеріали та методи

За інформованої згоди обстежено 88 пацієнтів з ХХН ВД ст., які отримують ниркозамісне лікування програмним гемодіалізом (52 чоловіки та 36 жінок). Контролем слугували 20 здорових донорів.

Згортаючий потенціал плазми крові визначали спектрофотометричним методом, реєструючи процес поглинання світла при довжині хвилі 405 нм фібриновим згустком, що з'являвся у кюветі при наявності 0,05 м НЕРЕС буферу з рН 7,4 (0,15 мМ NaCl, 5 мМ CaCl₂, 12 мкл плазми крові і тканинного активатора плазміногену (t-Ра) (фірма Boehringer Ingelheim, ФРН) до концентрації 75 іУ/мл). Зсідання плазми крові ініціювали додаванням

тромбопластину (фірма Sigma, США). Час фібринолізу згустку (фібринолітичний потенціал (Фп)) (в оптичних одиницях за сек. (о.о./с)) порівнювали з контрольною групою. Рівень розчинного фібрину (рФ) досліджували методом кількісного бісайтового імуноферментного аналізу [1]. Концентрацію Д-димерів (Д-д) досліджували імуноферментним методом за допомогою моноклональних антитіл до епітопів Д-димеру [2].

Статистична обробка матеріалів проведена з використанням методів варіаційної статистики за t-критерієм Ст'юдента.

Результати. Обговорення

За результатами одночасного визначення вмісту розчинного фібрину, як відомого маркера передтромбозу, рівня Д-димеру як маркера післятромбозу і фібринолітичної активності (i vivo), а також фібринолітичного потенціалу плазми крові (i vitro), у досліджуваних хворих та здорових донорів визначені їх концентрації та за співвідношеннями вираховували фібринолітичний коефіцієнт.

Для цього використовували розроблену та запропоновану нами формулу:

$$ФК = \frac{рФк/Д-дк}{рФп/Д-дп} : \frac{ФПк/ФПп}{ФПк/ФПп}$$

де ФК - фібринолітичний коефіцієнт;

рФк - розчинний фібрин (контроль) (мкг/мл);

рФп - розчинний фібрин пацієнта (мкг/мл);

ФПк - фібринолітичний потенціал (контроль) (о.о./с.);

Д-дк - Д-димер (контроль) (нг/мл);

Д-дп - Д-димер пацієнта (нг/мл);

ФПп - фібринолітичний потенціал пацієнта (о.о./с.).

Показники фібринолітичного коефіцієнту у загальній групі хворих та залежно від статі представлені в таблиці 1.

Як свідчать дані таблиці 1, Фк у загальній групі має тенденцію до зростання, при цьому його показники достовірно відрізняються у чоловіків та жінок. Так, Фк у жінок становить $1,43 \pm 0,21$ проти $0,92 \pm 0,11$ у чоловіків ($p < 0,05$), що вказує на вищу згортаючу готовність плазми крові жінок.

Таким чином, отриманий у результаті підрахунків коефіцієнт за значенням близький до "1" характеризує нормальні співвідношення в системі гемостазу; нижчий за "1" - характеризує переважання фібринолізу, а вищий за "1" характеризує схильність до тромбогенезу, що підтверджують нижче приведені клінічні приклади.

Таблиця 1. Значення фібринолітичного коефіцієнта у загальній групі та залежно від статі.

№ з/п	Групи хворих	n	Фібринолітичний коефіцієнт (Фк)
1	Загальна група	88	$1,13 \pm 0,11$
2	Чоловіки	52	$0,92 \pm 0,11$
3	Жінки	36	$1,43 \pm 0,21$
4	P	-	$P_{2-3} < 0,05$

Приклад 1. Хвора Г., 53 роки. Діагноз: ХХН VД ст., хронічний гломерулонефрит. Анурія. На програмному гемодіалізі 2 роки. Вміст розчинного фібрину пацієнтки рФп - 5,3 мкг/мл, Д-димер пацієнтки Д-дп - 211 нг/мл, фібринолітичний потенціал пацієнтки ФПп - 202,8 о.о./с., фібринолітичний потенціал в контролі ФПк - 72,5 о.о./с., розчинний фібрин (контроль) рФк - 3,0 мкг/мл, Д-димер (контроль) Д-дк - 70 нг/мл.

$$ФК = 3,0/70 : 5,3/211 = 72,5/202,8$$

$$ФК = 0,043:0,026:0,36 = 4,59^*$$

Розрахунковий (еквівалентний при даному рівні розчинного фібрину) Д-димер = $211 \times 4,59 = 968,5$ нг/мл.

Результат: *Тромбоз венозного доступу у даної хворої впродовж першого місяця спостереження.

Приклад 2. Хворий С., 32 роки. Діагноз: ХХН VД ст., хронічний гломерулонефрит. Олігурія. На програмному гемодіалізі 1 рік. Вміст розчинного фібрину пацієнта рФп - 1,9 мкг/мл, Д-димер пацієнта Д-дп - 57 нг/мл, фібринолітичний потенціал пацієнта ФПп - 22,5 о.о./с., фібринолітичний потенціал в контролі ФПк - 72,5 о.о./с., розчинний фібрин (контроль) рФк - 3,0 мкг/мл, Д-димер (контроль) Д-дк - 70 нг/мл.

$$ФК = 3,0/70 : 1,9/57 = 72,5/22,5 = 0,40^*$$

Розрахунковий (еквівалентний) Д-димер = $57 \times 0,40 = 22,8$ нг/мл.

Результат: *Масивна носова кровотеча впродовж першого тижня спостереження.

Приклад 3. Хвора В., 61 рік. Діагноз: ХХН VД ст., хронічний гломерулонефрит. Анурія. Вміст розчинного фібрину пацієнтки рФп - 3,6 мкг/мл, Д-димер пацієнтки Д-дп - 65 нг/мл, фібринолітичний потенціал пацієнтки ФПп - 96,2 о.о./с., фібринолітичний потенціал в контролі ФПк - 72,5 о.о./с., розчинний фібрин (контроль) рФк - 3,0 мкг/мл, Д-димер (контроль) Д-дк - 70 нг/мл.

$$ФК = 3,0/70 : 3,6/65 = 72,5/96,2 = 1,04^*$$

Розрахунковий (еквівалентний) Д-димер = $65 \times 1,04 = 67,6$ нг/мл.

Результат: * Без ускладнень впродовж 6 місяців спостереження.

Результати проведених досліджень на клінічних прикладах доводять, що запропонований фібринолітичний коефіцієнт дозволяє у простий спосіб визначати еквівалентні співвідношення між розчинним фібрином та Д-димером і з врахуванням фібринолітичного потенціалу прогнозувати тромботичні ускладнення у хворих, які лікуються програмним гемодіалізом. Також необхідно зазначити, що параметри фібринолітичного потенціалу, отримані in vitro, у поєднанні з молекулярними маркерами гемостазу, а саме розчинним фібрином і Д-димером складають досить інформативну компоненту коагуляційної ланки гемостазу у досліджуваних хворих. В цілому ж отримано підтвердження про порушення гемостазу у хворих ХХН VД ст., які супроводжуються активацією системи згортання і депресією фібринолітичної ланки гемостазу, що є ознакою постійної загрози ятрогенного тромбозу.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Запропонований Фк у хворих з ХХН ВД ст. дає можливість об'єктивно оцінювати стан коагуляційної ланки гемостазу.

2. У хворих ХХН ВД ст. Фк має тенденцію до збільшення. При цьому у жінок він є достовірно вищим, ніж у чоловіків ($p < 0,05$) і може слугувати показником тромботичного ризику у даної категорії пацієнтів.

3. Моніторинг коагуляційного статусу хворих, що отримують ниркозамісну терапію програмним гемодіалізом, може покращити профілактику можливих тромботичних ускладнень.

Запровадження в лабораторну практику розробленого комплексного показника у вигляді Фк дозволить більш адекватно оцінювати можливість розвитку тромбозів у даної категорії хворих.

Список посилань

1. Комісаренко, С. В., Луговської, Е. В., Колеснікова, І. М., Співак, М. Я., Грищенко, П. Г., Костюченко, О. П., ... Терещенко, М. І. (2012). Тест система імуноферментна для кількісного визначення розчинного фібрину в плазмі крові людини. Патент № 69283, Україна, МПК А61К 39/44. Київ: Державне патентне відомство України.
2. Комісаренко, С. В., Луговської, Е. В., Колеснікова, І. М., Співак, М. Я., Грищенко, П. Г., Ганова, Л. О., ... Терещенко, М. І. (2012). Тест система імуноферментна для кількісного визначення Д-димеру в плазмі крові людини. Патент № 69284, Україна, МПК А61К 39/4. Київ: Державне патентне відомство України.
3. Луговської, Е. В., Комісаренко, С. В., Платонова, Т. М., Рубленко, А. М., Фіщенко, В. О., Колеснікова, І. Н., ... Чернишенко, Т. М. (2013). Визначення вмісту розчинного фібрину та Д-димеру для прогнозування тромботичних ускладнень за ендопротезування кульшового суглоба. *Лабораторна діагностика*, 2(54), 3-8. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/labdiag_2013_2_2.
4. Рубленко, А. М., Урвант, Л. П., Макогоненко, Е. М., Платонова, Т. М., Цап, Р. Ю., Чернишенко, Т. М., ... Луговської, Е. В. (2011). Вплив активатора протеїну С на загальний гемостатичний потенціал плазми крові за ендопротезування тазостегнового суглоба. *Український біохімічний журнал*, 5, 32-38. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2011_83_5_7.
5. Goluz, E., Topalovic, M. G., Hudolin, T., Konosic, S., Kocman, I. B., & Peric, V. (2011). Disorders of hemostasis in chronic renal failure and renal transplantation. *Acta Med. Croatica*, 65(4), 3337-47. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22359906>.
6. Rios, D. R., Fernandes, A. P., Cervalho, M. G., Figueiredo, R. C., Guimaraes, D. A., Reis, D. R., ... Dusse, L. M. (2011). Hemodialysis vascular access thrombosis: The role of factor V Leiden, prothrombin gene mutation ABO blood groups. *Clin. Chim. Acta*, 412(5-6), 425-9. doi: 10.1016/j.cca.2010.11.002.
7. Stolic, R. V., Trajkovic, G. Z., Peric, V. M., Jovanovic, A. N., Markovic, S. R., ... Subaric-Gorgieva, GDJ. (2008). The influence of atherosclerosis and plasma D-dimer concentration in patients with a functioning arteriovenous fistula for maintenance hemodialysis. *Int. Urol. Nephrol.*, 40(2), 503-8. doi: 10.1007/s11255-007-9321-8.
8. dlia kilkisnoho vyznachennia rozchynnoho fibrynu v plazmi krovi liudyny [Test enzyme immunoassay for the quantitative determination of soluble fibrin in human blood plasma]. Patent № 69283, Ukraina, МПК А61К 39/44. Kyiv: Derzhavne patentne vidomstvo Ukrainy.
9. Komisarenko, S. V., Luhovskoi, E. V., Kolesnikova, I. M., Spivak, M. Ya., Hryshchenko, P. H., Hanova, L. O., ... Tereshchenko, M. I. (2012). Test sistema imunof fermentna dlia kilkisnoho vyznachennia D-dymeru v plazmi krovi liudyny [The enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative determination of D-dimer in human blood plasma]. Patent № 69284, Ukraina, МПК А61К 39/4. Kyiv: Derzhavne patentne vidomstvo Ukrainy.
10. Luhovskoi, E. V., Komisarenko, S. V., Platonova, T. M., Rublenko, A. M., Fishchenko, V. O., Kolesnikova, I. N., ... Chernyshenko, T. M. (2013). Vyznachennia vmistu rozchynnoho fibrynu ta D-dymeru dlia prohnozuvannia trombotychnykh uskladnen za endoprotezuvannia kulshovoho sughoba [Determination of soluble fibrin and D-dimer content for prognosis of thrombotic complications of hip joint replacement]. *Laboratorna diahnozytika - Laboratory Diagnostics*, 2(54), 3-8. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/labdiag_2013_2_2.
11. Rublenko, A. M., Urvant, L. P., Makohonenko, E. M., Platonova, T. M., Tsap, R. Yu., Chernyshenko, T. M., ... Luhovskoi, E. V. (2011). Vplyv aktyvatora proteinu S na zahalnyi hemostatychnyi potentsial plazmy krovi za endoprotezuvannia tazostehnovoho sughoba [Influence of protein C activator on the total hemostatic potential of blood plasma for hip replacement]. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal - Ukrainian Biochemical Journal*, 5, 32-38. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2011_83_5_7.
12. Goluz, E., Topalovic, M. G., Hudolin, T., Konosic, S., Kocman, I. B., & Peric, V. (2011). Disorders of hemostasis in chronic renal failure and renal transplantation. *Acta Med. Croatica*, 65(4), 3337-47. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22359906>.
13. Rios, D. R., Fernandes, A. P., Cervalho, M. G., Figueiredo, R. C., Guimaraes, D. A., Reis, D. R., ... Dusse, L. M. (2011). Hemodialysis vascular access thrombosis: The role of factor V Leiden, prothrombin gene mutation ABO blood groups. *Clin. Chim. Acta*, 412(5-6), 425-9. doi: 10.1016/j.cca.2010.11.002.
14. Stolic, R. V., Trajkovic, G. Z., Peric, V. M., Jovanovic, A. N., Markovic, S. R., ... Subaric-Gorgieva, GDJ. (2008). The influence of atherosclerosis and plasma D-dimer concentration in patients with a functioning arteriovenous fistula for maintenance hemodialysis. *Int. Urol. Nephrol.*, 40(2), 503-8. doi: 10.1007/s11255-007-9321-8.

References

1. Komisarenko, S. V., Luhovskoi, E. V., Kolesnikova, I. M., Spivak, M. Ya., Hryshchenko, P. H., Kostyuchenko, O. P., ... Tereshchenko, M. I. (2012). Test sistema imunof fermentna

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАРКЕРОВ ГЕМОСТАЗА И ПАРАМЕТРОВ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ХБП ВД СТАДИИ

Сторожук А.Б., Шеечук С.В., Селезнёва И.Б., Сторожук Л.А., Довгалюк Т.В., Сторожук Б.Г.

Аннотация. Нарушения в системе гемостаза больных ХБП ВД ст., лечащихся программным гемодиализом, связаны с высоким тромботическим риском. Комплексные исследования возможных причин и предикторов тромбофилий могут улучшить лечебные и профилактические меры борьбы с тромботическими осложнениями. Поиск же доступных способов прогнозирования данных осложнений является весьма актуальным. Цель - разработать способ прогнозирования развития

тромботических осложнений у данной категории больных, который позволял бы выявлять степень нарушений гемостаза. Обследовано 88 пациентов ХБП VD ст., лечащихся программным гемодиализом, у которых определяли фибринолитический потенциал и уровень растворимого фибрина и Д-димера иммуноферментным методом. Предложено использовать разработанный фибринолитический коэффициент (Фк) для прогнозирования тромботических осложнений. Установлено, что предложенный способ оценки гемостаза с помощью Фк дает возможность объективно характеризовать состояние коагуляционного звена и может служить показателем тромботического риска.

Ключевые слова: гемостаз, гемодиализ, фибринолитический коэффициент, тромботической риск.

POSSIBILITIES OF USING HEMOSTASIS MARKERS AND PARAMETERS OF HEMOSTATIC POTENTIAL FOR PREDICTING THROMBOTIC COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH CKD STAGE VD

Storozhuk O.B., Shevchuk S.V., Seleznyova I.B., Storozhuk L.O., Dovgalyuk T.V., Storozhuk B.G.

Annotation. *Violations in the hemostatic system of patients with chronic kidney disease (CKD) of the VD stage treated with program hemodialysis are associated with a high thrombotic risk. Comprehensive studies of the possible causes and predictors of thrombophilia can improve the therapeutic and prophylactic measures to combat thrombotic complications. The search for available methods for predicting these complications is very relevant. The goal is to develop a method for predicting the development of thrombotic complications in this category of patients, which would allow identifying the degree of hemostasis disorders. We examined 88 patients with CKD VD, treated with program hemodialysis, who determined the fibrinolytic potential and the level of soluble fibrin and D-dimer by enzyme immunoassay. It is proposed to use the developed fibrinolytic coefficient (Fc) to predict thrombotic complications. It was found that the proposed method for assessing hemostasis using Fc makes it possible to objectively characterize the state of the coagulation link and can serve as an indicator of thrombotic risk.*

Keywords: hemostasis, hemodialysis, fibrinolytic coefficient, thrombotic risk.
