

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна


**КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА
ДІАГНОСТИКА ТРОМБОФІЛІЙ
У ХВОРИХ ХХН V Д СТАДІЇ,
ЩО ПЕРЕБУВАЮТЬ
НА ПРОГРАМНОМУ ГЕМОДІАЛІЗІ**

Методичні рекомендації

Вінниця 2017

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Начальник Відділу експертизи
тимчасової та стійкої втрати
праездатності МОЗ України
С. І. Черняк
2017 р.



Клініко-лабораторна діагностика тромбофілій у хворих ХХН V Д стадії, що перебувають на програмному гемодіалізі

Методичні рекомендації

Вінниця 2017

УДК 616.151.511:616.61-008.64-036.17-78

Установа-розробник: НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М.І. Пирогова,
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Укладачі:

к.м.н., ст. н. сп. Сторожук Л. О.
д.м.н., проф. Шевчук С. В.
д.м.н., проф. Сторожук Б. Г.
д.м.н., проф. Заїчко Н. В.
чл.-кор. НАНУ, д. біол. н., проф. Луговської Е. В.
д. біол. н. Платонова Т. М.
к. біол. н. Колеснікова І. М.
к.м.н. Селезньова І. Б.
Сторожук О. Б.
Сторожук Н. В.

Рецензент: Керівник відділу ефективних технологій Державної установи
«Інститут нефрології Національної академії медичних наук
України», д.м.н., проф. Дудар Ірина Олексіївна

**Головний позаштатний спеціаліст МОЗ України зі спеціальності
«Нефрологія», член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор
Колісник М.О.**

Методичні рекомендації містять класифікацію тромбофілій, критерії для скринінгу хворих, методи сучасних лабораторних досліджень на прикладі хворих з ХХН V Д ст., що перебувають на програмному гемодіалізі.

ЗМІСТ

	Стор.
Вступ.....	5
I. Тромбофілія: класифікація та фактори ризику.....	6
II. Лабораторна діагностика тромбофілій.....	10
III. Клінічні приклади оцінки гемостазу у хворих з ХХН V Д ст., що перебувають на програмному гемодіалізі.....	22
Рекомендації.....	26
Список літератури.....	27

Перелік умовних скорочень

АДФ – аденозиндифосфорна кислота

АФА – антифосфоліпідні антитіла

АЧ – анцистроновий час

АЧТЧ – активований тромбопластиновий час

ГГЦ – гіпергомоцистеїнемія

ЕІ – екамуліновий індекс

ЕЧ – екамуліновий час

МІЧ – Міжнародний індекс чутливості тромбопластину

МТГФР – метилентетрагідрофолатредуктаза

ПАІ-1 – інгібітор активатора плазміногену першого типу

ПІ – протромбіновий індекс

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ПЧ – протромбіновий час

РАПС – резистентність до активованого протеїну С

РФМК – розчинний фібринмономерний комплекс

ТАП – тканинний активатор плазміногену

ТЧ – тромбіновий час

ФНФП – функціонально неактивні форми протромбіну

ХХН – хронічна хвороба нирок

Вступ

Експерти ООН в 2014 році назвали хвороби нирок найбільш важливими неінфекційними захворюваннями сучасності (ERA-EDTA Registry, 2014). Як свідчать офіційні дані, 10% населення страждає на ниркову патологію. Так, за даними журналу Lancet (2012), за двадцять років (1990-2010 рр.) смертність від хронічних хвороб нирок у світі зростає на 82%, і займає третє місце за швидкістю приросту летальності (після ВІЛ/СНІД та цукрового діабету).

Впровадження 15 років тому концепції хронічної хвороби нирок (ХХН) було обумовлено необхідністю уніфікувати поняття прогресування ниркової патології на етапі, коли причини ниркової недостатності втрачають свою актуальність, і хворий потребує не стільки патогенетичного, скільки синдромного лікування та підготовки до замісної ниркової терапії.

Розповсюдженість і захворюваність на ХХН, в тому числі, і в пізні стадії хвороби, в даний час стрімко зростають (Довідник ДЗ «Центр медичної статистики МОЗ України». – К., 2015). Значущість нефрологічної патології визначається важкістю хвороб нирок, обмеженням життєдіяльності та швидкістю інвалідизації в молодому працездатному віці.

Клінічні дані свідчать, що одним із важливих механізмів в патогенезі ускладнень при нирковій патології є порушення в системі гемостазу, які призводять до розвитку різних тромбофілій (тромбоз судинного доступу, тромбоз глибоких вен, цереброваскулярні та коронарні порушення тощо).

Останнє пояснюється участю нирок у підтримці гемостазу за рахунок виділення факторів згортання в кров'яне русло (ф. VII, VIII, IX, X), тромбoplastину, гепарину, урокінази, тканинного активатора плазміногену (ТАП), інгібіторів фібринолізу, а також часткового катаболізму фібриногену та ф. XII.

Тому вивчення факторів ризику тромботичних ускладнень у пацієнтів з ХХН, і особливо у хворих, що перебувають на програмному гемодіалізі, та розробка індивідуальних програм профілактики тромбозів є актуальним завданням як медико-соціальної експертизи та реабілітації інвалідів, так і медицини в цілому.

I. Тромбофілії: класифікація та фактори ризику

Тромбофілії – це стан кровеносної системи, який характеризується підвищеною схильністю до розвитку тромбозів в кров'яному руслі, в основі яких лежать порушення гемостатичного балансу та гемореології в різних ланках гемостазу.

Система гемостазу включає в себе три етапи:

1. Судинно-тромбоцитарний (мікроциркуляторний);
2. Коагуляційний (плазмовий);
3. Фібринолітичний.

Тромбоутворення – кінцевий результат взаємодії компонентів судинної стінки, тромбоцитів та білків згортаючої та протизгортаючої системи крові.

На даний час виділено велику кількість первинних та набутих тромбофілій, які відрізняються за етіологією, характером порушень, ускладненнями та прогнозом і, не зважаючи на спільність проявів, потребують різних діагностичних заходів. Також в останні роки відмічається значний прогрес у вивченні спектру та молекулярних механізмів порушень в системі гемостазу, які причетні до формування підвищеної схильності до тромбозів (тромбофілій).

Класифікація основних видів тромбофілій за З.С. Баркаганом (1999):

1. Гемореологічні форми

- 1.1. Поліглобулії, поліцитемії, синдроми підвищеної в'язкості крові.
- 1.2. Гемоглобінопатії, які супроводжуються зниженням здатності еритроцитів до деформації.
- 1.3. Форми, зв'язані з гіпервіскозністю плазми (парапротеїнемії, гіперфібриногенемії).

2. Форми, обумовлені порушеннями судинно-тромбоцитарного гемостазу

- 2.1. Тромбоцитемії та гіпертромбоцитозиди (первинні, симптоматичні, в тому числі неопластичні).
- 2.2. Форми з підвищеною спонтанною агрегацією та адгезивністю тромбоцитів та/або з підвищеною чутливістю до агоністів агрегації (колагену, АДФ, адреналіну, арахідонової кислоти), в тому числі «синдром липких тромбоцитів».
- 2.3. Форми, обумовлені гіперпродукцією та підвищеною мультимерністю фактора фон Віллебранда, а також зі зниженням антиагрегантного потенціалу плазми – тромботична тромбоцитопенічна пурпура (хвороба Мошковіц), мікроангіопатична гемолітична анемія та ін.

3. Форми, зв'язані з дефіцитом та/або аномаліями первинних фізіологічних антикоагулянтів

- 3.1. Дефіцит та/або аномалія антитромбіну III.
 - 3.2. Дефіцит та/або аномалія протеїну C.
 - 3.3. Дефіцит та/або аномалія протеїну S.
 - 3.4. Дефіцит та/або аномалія тромбомодуліну.
 - 3.5. Дефіцит та/або аномалія інгібітору зовнішнього шляху активації зсідання крові (TFPI).
 - 3.6. Надлишок інгібітору протеїну C.
 - 3.7. Дефіцит кофактору II гепарину.
 - 3.8. Надлишок багатого гістидином глікопротеїну – інгібітору комплексу плазмовий антитромбін-гепарин.
4. *Форми, зв'язані з дефіцитом чи аномаліями плазменних факторів зсідання крові та фібринолізу*
- 4.1. Аномалії фактору V (Лейден), резистентність до активованого протеїну C.
 - 4.2. Тромбогенні дисфібриногенемії.
 - 4.3. Дефіцит та /або аномалії плазминогену.
 - 4.4. Дефіцит та порушення вивільнення тканинного активатору плазміногену.
 - 4.5. Високий рівень інгібіторів активаторів плазминогену (PAI-1, PAI-2).
 - 4.6. Рідкісні форми (дефіцит фактору XII, плазменного прекалікреїну, високомолекулярного кініногену).
5. *Форми, зв'язані з підвищенням рівня та недостатньою інактивацією факторів зсідання крові*
- 5.1. Підвищення рівня та ступеню активації комплексу тканинний фактор + фактор VII + фактор Ха + Ca²⁺, в тому числі і симптоматичні форми при гестозах, гіперліпідеміях, атеросклерозі, вісцеральних видах раку.
 - 5.2. Підвищення рівня фактору VIII.
 - 5.3. Гіперфібриногенемія.
6. *Автоімунні та інфекційно-імунні тромбофілії*
- 6.1. Антифосфоліпідний синдром.
 - 6.1.1. Первинний антифосфоліпідний синдром.
 - 6.1.2. Вторинний антифосфоліпідний синдром при системних імунних захворюваннях та пухлинах: форми з антитілами до аннексину V, протромбіну, протеїну C.
 - 6.2. При хворобі та синдромі Бехчета.
 - 6.3. При імунних тромбоваскулітах.
 - 6.4. При інфекційно-імунних захворюваннях.
 - 6.4.1. Тромбогеморрагічні лихоманки.

6.4.2. Гемолітикоуремічний синдром.

6.4.3. При бактеріальному ендокардиті, сепсисі.

7. Паранеопластичні форми

7.1. Синдром Труссо.

8. Метаболічні форми з комплексом порушень в різних ланках системи гемостазу

8.1. Діабет та діабетичні ангіопатії.

8.2. Гіперліпідемії: вроджені та симптоматичні.

8.3. Гіпергомоцистеїнемія, гомоцистеїнурія: генетично-обумовлена (рання) та набута симптоматична (пізня).

8.4. Гіперурікемія (спадкова, вторинна).

9. Ятрогенні (в тому числі і медикаментозні) форми

9.1. При катетеризації судин, стентуванні та шунтуванні судин, протезуванні клапанів серця, імплантації қава-фільтрів, тромбоектомії.

9.2. Медикаментозні форми.

9.2.1. При прийомі естрогенних контрацептивів.

9.2.2. Форми, обумовлені гемостатичною терапією – концентратами факторів протромбінового комплексу, десмопресину та ін.

9.2.3. Форми, викликані прийомом антикоагулянтів: гепарин-індукована тромбоцитопенія, кумаринові тромботичні некрози шкіри.

9.2.4. Тромбози при лікування інгібіторами фібринолізу.

9.3. При трансплантації кісткового мозку (печінкова венозна оклюзивна хвороба).

9.4. Тромбози при гемотерапії онкологічних захворювань.

9.5. Тромбози змішаного генезу.

До клінічних проявів тромбофілій відносять:

- Спонтанні тромбози – тромбози, які виникають за відсутності явних ситуацій ризику (оперативні втручання, іммобілізація, тощо).

- Тромбози незвичайної локалізації – тромбози, які виявляються поза венозною системою нижніх кінцівок та тазу, зокрема тромбози судин верхніх кінцівок та брижових судин.

- Рання перша маніфестація тромбозу – виникнення тромбозу до 45 років.

- Рецидивні тромбози – незалежно від локалізації другий та всі наступні епізоди тромбозу вважають рецидивами, при цьому важливе значення має

інтервал між епізодами тромбозу. Виникнення тромбозу під час прийому пероральних антикоагулянтів свідчить про високу схильність до спонтанного тромбоутворення.

- Сімейна схильність – підвищена схильність до тромбозів у членів родини при наявності спадкових факторів ризику тромбофілії.

- Схильність до абортів – у жінок з повторними абортами фактори ризику тромбофілії виявляються частіше. Одиначний аборт не вважається показом до проведення діагностики тромбофілії.

Вторинні набуті фактори ризику тромбофілій та венозних тромбозів

1. Обумовлені стазом – іммобілізація, ожиріння, серцева недостатність, інсульт, зневоднення, вагітність, підвищена в'язкість крові, варикозне розширення вен.

2. Обумовлені активацією зсідання крові – великі хірургічні операції, травми, злоякісні новоутворення, антифосфоліпідні антитіла, пероральні контрацептиви, естрогенотерапія, нефротичний синдром.

3. Обумовлені порушенням тромбоцитів – гіперактивні тромбоцити, тромбоцитоз, пароксизмальна нічна гемоглобінурія, трансфузії з концентратами фактору IX.

4. Обумовлені різними факторами – вік, сепсис, високий рівень фібриногену, високий рівень фактору VII.

Ризик тромбозів у пацієнтів, які не отримують антикоагулянти

Середній ризик

- Іммобілізований пацієнт віком до 40 років
- Загальнохірургічні втручання тривалістю менше 30 хвилин

Високий ризик

- Мобільний пацієнт віком старше 40 років з інвазивним втручанням
- Іммобілізований пацієнт віком старше 40 років
- Загальнохірургічне втручання тривалістю менше 30 хвилин у хворого віком старше 40 років
- Іммобілізуючі пов'язки
- Пацієнти терапевтичного профілю

Надзвичайно високий ризик

- Загально хірургічні втручання тривалістю більше 30 хвилин у хворих віком старше 60 років
- Ортопедичні і травматологічні втручання на коліні та стегні
- Попередній тромбоз під час медикаментозної профілактики

Клінічні критерії відбору хворих для скринінгу на тромбофілію

1. Виключення причин тромбозу, зв'язаних з набутими захворюваннями – антифосфоліпідним синдромом, злоякісними новоутвореннями, мієлопроліферативними порушеннями.
2. Розвиток першого венозного тромбозу у віці до 40 років.
3. Тромбоемболія легеневої артерії, підтверджена ангіографією, венографією, скануванням легень.
4. Нетипова локалізація тромбозу (в мезентеріальних, ниркових, портальних або церебральних венах).
5. Рецидивний тромбоз поверхневих вен.
6. Оцінка клінічних факторів ризику розвитку тромбозу.
7. Злоякісна пурпура новонароджених або масивний тромбоз в неонатальному періоді.
8. Сімейний тромботичний анамнез.
9. Рецидивуючий тромбоз у віці до 40 років при відсутності сімейного тромботичного анамнезу.
10. Тромбоз церебральних артерій, інфаркт міокарду, оклюзія периферійних артерій у віці до 40-50 років.
11. Рецидив оклюзії периферійної артерії на тлі успішного хірургічного лікування.
12. Варфарин-індуковані некрози шкіри.

II. Лабораторна діагностика тромбофілій

Для виявлення тромбофілічного стану не існує єдиного інформативного лабораторного діагностичного тесту. Тому діагностика стану гемостазу повинна базуватися на комплексному аналізі показників, що сприяють з'ясуванню механізмів тромбоутворення при даній патології і є маркерами активації системи зсідання крові. За наявності відповідної клінічної ситуації та симптомів тромбофілії, виявлення сукупності хоча б чотирьох-п'яти із основних та додаткових лабораторних ознак повинно розглядатися як підтвердження діагнозу та слугувати основою для проведення необхідної патогенетичної терапії.

Лабораторні тести, які застосовуються для діагностики тромбофілій, можна розділити на:

- *Тести для оцінки стану системи гемостазу* – дозволяють виявити порушення рівноваги між окремими ланками системи гемостазу, з'ясувати ризик тромбозу на момент дослідження, вирішити питання щодо призначення антикоагулянтів. Ця група тестів не дозволяє встановити причину тромбофілії, а лише спрямовує її пошук.

- *Тести для виявлення причин тромбофілії.* Ці тести дозволяють визначити причину тромбофілії, але не дають уявлення стосовно ризику тромбозу на момент дослідження. В цю групу можна віднести:
 - *Антигенні тести* – дозволяють визначити концентрацію факторів системи гемостазу речовини (імунохімічні, радіоімунні та ін. методи).
 - *Молекулярно-генетичні тести* – дозволяють виявити мутації генів та провести експресійний аналіз окремих генних продуктів (методом ПЛР).
- *Тести для оцінки стану системи гемостазу при тромбофілії.* В цій групі виділяють попередні скринінгові тести, які відображають послідовність активації компонентів системи гемостазу (час кровотечі, протромбіновий час (ПЧ), активований тромбoplastиновий час (АЧТЧ), визначення вмісту фібриногену та величини гематокриту, лізис еуглобулінової фракції). Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють конкретизувати напрямок пошуку порушеної ланки гемостазу (табл. 1).

Таблиця 1. Скринінгові тести для аналізу стану системи гемостазу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
АЧТЧ (Активований частковий тромбoplastиновий час) N – 27-45 с	Характеристика процесу активації факторів внутрішнього шляху зсідання. Виявлення порушення рівноваги між про- та антикоагулянтами
ПЧ (Протромбіновий час) N – 13-18 с	Характеристика процесу активації факторів зовнішнього шляху зсідання крові
ПІ (Протромбіновий індекс) ПІ = ПЧ (порогового) / ПЧ (пацієнта) N – 100-105%	Характеристика порушень рівноваги між про- та антикоагулянтами
ТЧ (Тромбіновий час) N – 15-25 с	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові (перетворення фібриногену в фібрин)
Вміст фібриногену N – 1,8-3,0 г/л	Виявлення гіпо- та гіперфібриногенемії
Загальна фібринолітична активність плазми крові N – 150 – 300 хв	Характеристика фібринолітичного потенціалу

Маркери активації тромбоутворення:

- *Ранні маркери активації тромбіну* – фрагменти протромбіну F1+2 та комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ).
- *Маркери, які характеризують ступінь активації системи зсідання крові* - фібрин-мономери (РФМК) та фібринопептид А.
- *Пізні маркери, які з'являються після утворення фібрину* – D-димер. D-димер є маркером як фібриноутворення, так і фібринолітичної активності.

Маркери активації мають різний період напіввиведення з системи циркуляції:

- Фібринопептид А – 3-5 хвилин;
- ТАТ – 15 хвилин;
- F 1+2 – 90 хвилин;
- РФМК та D-димери – декілька годин.

Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють визначити ризик тромбозу на момент дослідження та обрати тактику лікування та проконтролювати його ефективність (табл. 2).

Таблиця 2. Лабораторні тести для оцінки ризику та діагностики тромбозу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК)	Маркери тромбінемії, викликають посилення агрегації тромбоцитів
Екамуліновий час (ЕЧ)	Виявлення функціонально-неактивних форм протромбіну – маркера тромбінемії. Контроль ефективності лікування антикоагулянтами непрямої дії
Анцистроновий час (АЧ)	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові під дією тромбіноподібного ферменту, який нечутливий до дії гепаринів. Одночасне скорочення часу зсідання плазми крові в тестах ТЧ та АЧ є показником розвитку тромбофілії
D-димер	Продукти деградації фібрину, що входили до складу тромбу. Характеризує інтенсивність утворення та лізису фібринових згустків. Маркер тромбозу
Комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ)	Маркер гострого тромбозу. Присутність ТАТ в плазмі свідчить про утворення тромбіну в момент дослідження і про можливе виснаження резервів антикоагулянтів
Фрагменти протромбіну F1+2	Відображають активність перетворення протромбіну в тромбін за участі протромбіназного комплексу (фактор Ха, фактор Va, фосфоліпідів та Ca ²⁺), який функціонує в умовах активації системи зсідання крові.

Розчинний фібринмономерний комплекс (РФМК) є одним із головних показників стану гіперкоагуляції. Це олігомерні комплекси фібрину з фібриногеном та продуктами деградації фібрину/фібриногену. Накопичення РФМК свідчить про активацію системи зсідання крові, а також про порушення динамічної рівноваги між функціонуванням системи зсідання крові та фібринолізом. Існує декілька методів визначення РФМК в плазмі крові: 1) преципітація різними хімічними агентами (ортофенантропіном,

протамінсульфатом, β -нафтолом, етанолом, фосфатами калію та натрію); 2) функціональними методами, які ґрунтуються на здатності розчинного фібрину прискорювати перетворення плазіногену в плазмін під дією тканинного активатора плазіногену; 3) імунохімічними методами з використанням фібринспецифічних антитіл. Останні є найбільш точними. Для визначення РФМК у хворих на ХХН V Д ст. використовувалась методика бісайтового імуноферментного кількісного визначення продуктів плазінового розщеплення фібрину, у якому як «catch»-антитіла були використані моноклональні антитіла – III-3b, а як «tag» – моноклональні антитіла II-4d, які були отримані у відділі структури та функції білків інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України проф., чл.-кор. НАНУ Е. В. Луговським. Запропонований метод дозволяє визначити кількісний вміст ранніх форм розчинного фібрину, продуктів деградації розчинного фібрину плазіном, а також вміст розчинних продуктів плазінової деградації фібрину із тромбу. Продукти деградації фібрину із тромбу відрізняються від таких із розчинного фібрину тим, що у перших немає фібринопептидів А (P. J. Gaffney et al.). Таким чином, вказаний метод дозволяє визначити загрозу тромбоутворення при різних захворюваннях та проводити моніторинг антитромботичної і тромболітичної терапії.

Екамуліновий час (ЕЧ) та функціонально неактивні форми протромбіну (ФНФП)

Екамулін – фермент-активатор протромбіну, виділений з отрути ефі багатолускової. На відміну від тромбопластину, який активує лише функціонально активний протромбін, екамулін активує як протромбін, так і його функціонально неактивні форми. При тромбінемії кількість ФНФП буде зростати, оскільки тромбін розщеплює протромбін з утворенням претромбіну I (неактивна форма). Виявити накопичення ФНФП можна при порівнянні результатів протромбінового та екамулінового тестів. Контрольний час зсідання донорської плазми в екамуліновому тесті – 120 с.

Результати тесту екамуліновий час можна представити як екамуліновий індекс – співвідношення часу зсідання плазми крові донорів та досліджуваної крові (при проведенні коагулометричного варіанту тесту). При накопиченні в плазмі крові функціонально неактивних форм протромбіну екамуліновий індекс вище за протромбіновий. Значення екамулінового індексу відповідає загальному рівню протромбіну в плазмі крові. На основі дослідження впливу препаратів претромбіну на час зсідання плазми крові донорів в тесті екамуліновий час було встановлено кількісні закономірності щодо вмісту ФНФП. Якщо екамуліновий індекс вище протромбінового індексу на 10-20%, вміст ФНФП становить 1,2 мкг/мл, 20-40% – 2,4 мкг/мл, 40-60% – 3,6 мкг/мл.

При проведенні екамулінового та протромбінового тестів амідолітичним

методом з використанням хромогенного субстрату можна визначити індекс накопичення ФНФП. Для розрахунку цього індексу результати протромбінового та екамулінового тестів представляють у вигляді протромбінового відношення (ПВ) та екамулінового відношення (ЕВ):

$$\text{ПВ} = (A_d/A_k)^{\text{МІЧ}} \quad (1),$$

$$\text{ЕВ} = A_d/A_k \quad (2),$$

де: A_d – екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності досліджуваної плазми крові під дією тромбoplastину (1) та екамуліну (2)), A_k – екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності контрольної плазми крові донорів під дією тромбoplastину (1) та екамуліну (2)), МІЧ – Міжнародний Індекс Чутливості тромбoplastину.

Індекс накопичення ФНФП розраховують як співвідношення між екамуліновим та протромбіновим відношеннями:

$$\text{Індекс накопичення ФНФП} = \text{ЕВ/ПВ} \quad (3).$$

Співвідношення $\text{ЕВ/ПВ}=1$ відповідає нормі. Якщо отриманий індекс становить 1,2 та вище, то це є ознакою накопичення ФНФП в плазмі крові. Приклад розрахунку:

Так, наприклад, в плазмі крові пацієнта:

- протромбінове відношення складає $(0,265/0,467)^{1,06} = 0,55$ (1)

- екамулінове відношення складає $0,350/0,348 = 1,0$ (2).

Відповідно, індекс накопичення ФНФП становитиме $1/0,55=1,8$, що свідчить про накопичення ФНФП.

Також встановлено, що цей індекс корелює з іншими показниками системи гемостазу. Так, в 70% випадків високий вміст РФМК асоціювався зі збільшенням індексу накопичення ФНФП, а в 44% випадків присутність ФНФП виявлялась у осіб зі зниженням рівня фізіологічного інгібітору зсідання крові протеїну С.

Визначення ЕЧ проводили наступним чином: в конічну скляну пробірку вносили 0,1 мл плазми крові та прогрівали при $t - 37^\circ\text{C}$, після чого додавали 0,1 мл 0,025 М хлориду кальцію та 0,1 мл розчину екамуліну. Ретельно перемішуючи визначали час зсідання плазми крові (помірно струшували на водяній бані при $t - 37^\circ\text{C}$). Час зсідання плазми крові здорових донорів в тесті ЕЧ дорівнював 120 с*.

Примітка: * – кров здорових донорів натщесерце набирали у вакутайнер з цитратом 3,8% у співвідношенні 1:9 без використання джугта.

Осадження формених елементів крові проводили центрифугуванням 1200-1400 г. Плазму крові (супернатант) переносили в пробірку Еппендорфа.

Анцистроновий час (аналог рептилазного). Анцистрон – тромбіноподібний фермент, який на відміну від тромбіну не інгібується антитромбіном та гепарином, не активує фактор XIII, не викликає ретракцію згустків. В даному тесті ми використовували анцистрон-Н, виділений з отрути Щитомордника звичайного – *Agkistrodon halys halys*.

При проведенні гепаринотерапії час зсідання плазми крові в тесті тромбіновий час значно подовжується, тоді як в тесті анцистроновий час цього не спостерігається. Співставлення результатів тестів тромбіновий час та анцистроновий час дозволяє охарактеризувати чутливість плазми крові до гепарину. Також проведення цього тесту є доцільним для виявлення тромбофілічного стану, оскільки він тісно корелює з вмістом РФМК. Це було виявлено при комплексному аналізі порушень системи гемостазу в плазмі крові хворих з інфарктом міокарду, ТЕЛА, опіками. Накопичення РФМК супроводжувалось значним скороченням анцистронового часу ($r=-0,75$). Перевірка виявлених закономірностей в модельних системах, до складу яких входили донорська плазма крові та екзогенний фібрин-мономер, підтвердила наявність залежності між вмістом розчинного фібрину та скороченням часу зсідання плазми крові в тесті анцистроновий час.

Контрольний час в тесті – 30 с за умов коливання рівня фібриногену в межах нормальних показників (2,5-3,0 г/л).

Д-димери – це специфічні продукти деградації фібрину, який входив до складу тромбу. Вони утворюються під час лізису згустку під дією плазміну. Концентрація Д-димерів в сироватці крові пропорційна активності фібринолізу та кількості лізованого фібрину. Визначення Д-димерів, як і РФМК, проводиться з використанням ІФА-методів, при цьому використовуються моноклональні антитіла до епітопів Д-димерів, що утворюються лише при розщепленні нерозчинного фібрину плазміном. Оскільки фібриноген та розчинний фібрин-мономер не мають цих епітопів, то лише Д-димери є показником розщеплення фібрину під час фібринолізу. Імуносорбент являє собою полістироловий планшет, лунки якого сенсibilізовані моноклональними антитілами, специфічними до Д-димеру («catch»-антитіла). Плазма, що вноситься в лунки планшета, формує комплекси антиген-антитіло, які виявляють з біотинільованими антитілами («tag»-антитіла). Ампліфікація сигналу відбувається після додавання стрептавидину, кон'югованого пероксидазою хрому. Після відмивки нез'язаних компонентів в лунки вносять проявник (суміш субстрату буфера і розчину хромогену тетраметилбензидину). Реакції зупиняють, додаючи стоп-реагент, а потім вимірюють оптичну щільність суміші в двохвильовому режимі (450/620 нм). Оптична щільність суміші в лунках пропорційна концентрації маркера в зразках плазми. Концентрацію Д-димера враховують

за калібрувальною кривою, побудованою з використанням зразків з відомим вмістом відповідного маркера. Результат норми відповідає 70 ± 20 нг/мл.

До тестів, що дозволяють уточнити порушення в системі гемостазу при тромбофіліях та уточнити причину цього стану, можна віднести вивчення активності та вмісту інгібіторів зсідання крові (протеїну С, протеїну S, антитромбіну III, резистентності до активованого протеїну С (РАПС), а також показників системи фібринолізу (ТАП, ПАІ-І) (табл. 3).

Таблиця 3. Уточнюючі тести для діагностики тромбофілій

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Антитромбін III	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Протеїн С	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Протеїн S	Кофактор протеїну С. Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Тканинний активатор плазміногену (ТАП)	Характеризує потенціал системи фібринолізу
Інгібітор тканинного активатору плазміногену (ПАІ-І)	Характеризує активність інгібітору активатора плазміногену

Антитромбін III (АТ III). Відноситься до основних первинних фізіологічних антикоагулянтів і є інгібітором тромбіну, а також XIIa, XIa, IXa, VIIa факторів системи зсідання крові. Для визначення активності АТ III найбільш часто використовують метод, заснований на здатності плазми інактивувати екзогенний тромбін. Також АТ III визначають імунохімічними методами та тестами з хромогенними субстратами.

За рівнем зниження активності екзогенного тромбіну у % від норми оцінюють антитромбінову активність плазми крові. Нормальний рівень активності АТ III у дорослих становить 75-125% (цей діапазон співпадає в різних тест-наборах). За З.С. Баркаганом (1991) розрізняють такі ступені дефіциту АТ III: вкрай важкий – АТ III біля 5% (летальні тромбоемболії та інфаркти в перші роки життя), важкий – АТ III до 40% (часті спонтанні тромбози), помірний – АТ III 41-65% (спонтанні тромбози рідкі, але легко виникають при наявності провокуючих факторів), потенційний – АТ III 66-85% (схильність до розвитку тромбозів в ситуаціях ризику). Дефіцит АТ III може бути спадковим та набути (підвищення споживання при тромбозах). Ми спостерігали формування помірного дефіциту АТ III у хворих з опіковою травмою ($57,2 \pm 12,8\%$), гострим інфарктом міокарду ($71,5 \pm 8,5\%$), у хворих з поліморфізмом по МТГФР та ГГЦ ($74,6 \pm 6,5\%$).

Протеїн С. Для визначення протеїну С використовують імунохімічні методи: метод з хромогенним субстратом та коагуляційний. Для функціональних методів використовують специфічні активатори протеїну С, виділені з отрути змій (зокрема отрути щитомордника). Для цього 30 мл плазми крові, 100 мл активатора протеїну С, 85 мкл 0,05 м трис-НСІ буферу з рН 7,4 і вмістом 0,13 М NaCl та 35 мкл 2 мМ хромогенного субстрату S2236 інкубують при t 37°C 15 хвилин. Кількість розщепленого гомогенного субстрату S2236 для протеїну С визначається спектрофотометрично за довжини хвилі 405 і 492 нм. Вміст протеїну С в плазмі крові в нормі дорівнює 100±15-20% і при значеннях >70% розцінюється як дефіцит та зростання схильності до тромбозів*.

Антикоагулянтна активність протеїну С, що пов'язана з протеолізом та інактивацією ф. VIIIa та Va, є одним з основних фізіологічних бар'єрів тромбозу. Тому визначення резистентності ф. Va до активованого протеїну С (РАПС) – один з найперших підходів при виявленні індивідуального ризику тромбозу. Найбільш поширена причина РАПС – це мутація гена фактора V (Лейденська мутація), для виявлення якої використовують тест на РАПС з плазмою пацієнта, розбавленою 1:5 плазмою з дефіцитом ф. V. При додаванні активатора протеїну С до суміші нормальної та дефіцитної по ф. V плазми, час зсідання в тесті АЧТЧ збільшується вдвічі. При РАМС збільшення АЧТЧ є значно меншим. Паралельне використання тесту АЧТЧ та тесту з формованим субстратом дає змогу виявити порушення взаємодії між ф. Va зсідання крові, протеїном С та протеїном S на фосфоліпідній мембрані, що свідчить про стан коагуляційного каскаду внутрішнього шляху зсідання крові. Наприклад, зниження вмісту протеїну С спостерігалось у хворих з гострим інфарктом міокарду ($65,3 \pm 4,96$), опіковою хворобою ($58,6 \pm 2,4\%$).

Протеїн S вітамін-К-залежний білок, кофактор активованого протеїну С (АПС). Для його визначення використовують коагуляційний та імунохімічний методи. Принцип коагуляційного методу полягає в тому, що досліджувану плазму змішують з плазмою дефіцитної за протеїном S. Після додавання активованого протеїну С та очищеного ф. Va визначали час зсідання крові в тесті АЧТЧ. Збільшення часу зсідання крові пропорційно активності протеїну S.

Примітка: * – рівень протеїну С може також знижуватися і до 50% при лікуванні варфарином, так як протеїн С є вітамін-К-залежним білком.

Фактор X (Стюарта-Прауера) – вітамін-К-залежний глікопротеїн, який активується комплексом ф. VIIa, тканинний фактор (ТФ) та Ca^{2+} – (теназа зовнішнього згортання) і комплексом ФІХа, VIIIa, фосфоліпиди та Ca^{2+} (теназа внутрішнього згортання).

Визначення рівня функціонально активного ф. X відбувається при його активації в плазмі крові отрутою гадюки Расела (RVV). Для цього 10 мкл плазми крові, 5 мл RVV, 10 мкл М CaCl_2 та 200 мкл 0,05 М трис-НСІ буферу (рН 7,4) з вмістом 0,13 М NaCl та 25 мкл хромогенного субстрату S2765 інкубують при t 37°C. Кількість розщепленого хромогенного субстрату визначають спектрофотометрично за довжиною хвилі 405 і 492 нм.

Визначення вмісту фібриногену в плазмі крові проводили з використанням тромбіноподібного ферменту Анцистрона-Н, отриманого з отрути щитомордника звичайного. Для цього в скляну трубку вносили 0,2 мл досліджуваної плазми і 1,7 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,0), а потім додавали 0,1 мл тромбіну – 2 NIH і 0,1 мл 0,04 М моноіодоцтової кислоти (якщо в процесі визначення замість тромбіну використовують Анцистрон-Н, то у фосфатний буфер не додають моноіодову кислоту для попередження активації ф. XIII, оскільки Анцистрон-Н не активує ф. XIII). 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 виймали шляхом викручування на паличку та віджимали рідину, натискаючи на стінки пробірки. Потім згусток декілька разів промивали в холодному розчині хлористого натрію, а рідину видаляли з поверхні легким дотиком до фільтрувального паперу. Утворений згусток розчиняли в 5 мл 1,5% оцтової кислоти, а концентрацію протеїну в отриманому розчині визначали на спектрофотометрі, вимірюючи поглинання при довжині хвилі 280 і 320 нм.

ТАП (тканинний активатор плазміногену). ТАП вивільняється в кровоток з ендотеліальних клітин, де він синтезується. Активність ТАП можна визначати за його здатністю в присутності стимулятора перетворювати плазміноген в плазмін, який далі буде розщеплювати хромогенний субстрат з вивільненням паранітроаніліду. В нормі активність ТАП складає 2,05 МЕ/мл, зниження його активності є предиктором тромбозів. Імунохімічні методи визначення ТАП дають інформацію про його кількість, але не характеризують активність (що є більш важливим).

Діагностика дефіциту ТАП полягає також в оцінці його здатності вивільнятись з судинної стінки при стресовому впливі. Для цього проводять пробу з дозованим стисканням вен манжеткою або джгутом на 10-15 хвилин і порівнюють вміст та активність ТАП до та після манжетової проби.

ПАІ-1 (інгібітор активатора плазміногену першого типу) – є основним інгібітором урокінази та ТАП. Підвищення ПАІ-1 є однією з причин рецидивних венозних тромбозів. Визначення ПАІ-1 проводять імунохімічними та функціональними методами. Оскільки вміст ПАІ-1 в плазмі крові підлягає циркадним коливанням, забір крові для дослідження необхідно проводити зранку в один і той же час. Визначення ПАІ-1 відбувається в декілька етапів – спочатку проводять інактивацію інгібіторів плазміну $\alpha 2$ -антиплазміну та $\alpha 2$ -макроглобуліну, а потім визначають залишкову активність доданого в надлишку плазміну.

Молекулярно-генетичні лабораторні тести для виявлення причин тромбофілій. В останні роки були розгорнуті широкомасштабні дослідження генетично-обумовлених дефектів гемостазу як причин рецидивуючих тромбозів та тромбоемболій, і з'ясувалось, що серед великого спектру спадкових факторів ризику тромбофілії найбільш вагомими є Лейденська мутація по фактору V зсідання крові, мутація по гену протромбіну G20210A та поліморфізм по метилентетрагідрофолатредуктазі (МТГФР) – ферменту обміну гомоцистеїну.

Лейденська мутація фактору V. Фактор V – глікопротеїн плазми крові, який прискорює перетворення протромбіну в тромбін під дією протеїнази фактору Ха при наявності фосфоліпідів та Ca^{2+} .

Точкова мутація гена фактору V в 1691 положенні (G1691A) приводить до заміни аргініну на глутамін в 506 положенні в білку, що обумовлює його резистентність до дії інгібітору зсідання крові активованого протеїну С. При цьому активований протеїн С не здатний інактивувати фактори V та VIII, що викликає підвищення рівня тромбіну та розвиток тромбофілічного стану. Лейденська мутація успадковується за аутосомно-домінантним типом і її частота коливається від 1 до 14% в різних популяціях. Серед осіб з тромбозами виявляється до 40% носіїв цієї мутації. Резистентність до активованого протеїну С формується у 90% осіб з лейденською мутацією. Мутація асоціюється з підвищеним ризиком венозних тромбозів (в 5-10 разів у гетерозигот та в 50-80 разів у гомозигот) та інфаркту міокарду. Нещодавно відкриті нові точкові мутації гену фактору V – в положенні 306 заміна аргініну на треонін (форма Кембрідж) або гліцин (форма Hong-Kong).

Мутація гену протромбіну G20210A. Заміна гуаніну на аденін в положенні 20210 в некодуючій 3'-термінальній ділянці гену протромбіну призводить до зростання вмісту протромбіну в крові, що зумовлює збільшення ризику тромбозів в 3-5 разів. Успадкування мутації відбувається за аутосомно-домінантним типом, а її частота в європейській популяції складає 1-4% і у осіб з тромбозами зростає до 20%. Мутація асоціюється з

підвищеним ризиком (в 3-5 рази) тромбозів глибоких вен, інфаркту міокарду, інсультів.

Поліморфізм по МТГФР. Найбільш частою мутацією гену МТГФР є заміна цитозину та тимін в 677 положенні (С677Т), що приводить до заміни в білку валіну на аланін в 222 положенні. Наслідком цієї мутації є поява термолабільної МТГФР зі зниженою (на 35-50%) каталітичною активністю, що спричиняє порушення обміну гомоцистеїну та розвиток гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Успадкування відбувається за аутосомно-рецесивним типом, а поширеність цієї мутації в європейській популяції є достатньо високою – до 10-13% гомозигот (Т/Т) та до 50% гетерозигот (С/Т). Вважається, що ця мутація асоціюється з підвищенням ризику артеріальних та венозних тромбозів (в 2-3 рази) при розвитку гіпергомоцистеїнемії. Існують і менш поширені варіанти точкових мутацій по МТГФР (А1298С чи А1793G), які також причетні до розвитку гіпергомоцистеїнемії.

Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ). Гомоцистеїн – це замінна амінокислота, яка містить сірку у вигляді вільної сульфгідрильної групи. В організм людини гомоцистеїн із їжею не надходить, а з'являється як проміжний метаболіт в процесі перетворення метіоніну (незамінної амінокислоти, яка надходить із їжею) в цистеїн. Основним місцем утворення гомоцистеїну вважається печінка, в значно менших кількостях він також синтезується у лімфоцитах, фібробластах, ендотеліальних клітинах. Менш ніж 0,05% усього синтезованого гомоцистеїну екскретується у незмінному вигляді із сечею, решта – катаболізується в процесі тубулярної реабсорбції у тканині нирок.

Підвищення вмісту гомоцистеїну в плазмі крові є наслідком порушення рівноваги між його продукцією та метаболізмом. Причини виникнення ГГЦ можна поділити на дві групи: вроджені дефекти гомоцистеїнметаболізуючих ферментів (МТГФР, цистатіонін-β-синтетази та цистатіонін-γ-ліази) та набуті вади, що виникають внаслідок дефектів харчування (аліментарний дефіцит вітамінів В₂, В₆, В₁₂ та В₉, надлишок метіоніну), вікових порушень, шкідливих звичок (паління, зловживання кавою, алкоголь) та деяких захворювань (діабет, ниркова недостатність), прийомі певних лікарських препаратів (метотрексату, ізоніазиду та ін.), а іноді – з нез'ясованих причин.

ГГЦ тривалий час протікає безсимптомно і проявляється раннім розвитком коронарної хвороби серця, тромбозів, інсультів. Підвищення на 5 мкмоль/л рівня ГЦ в крові збільшує ризик коронарної хвороби серця на 60-80%. Ризик тромбозів при ГГЦ зростає в 3-5 разів. Нормальним вважається рівень ГЦ до 10 мкмоль/л, субнормальним – рівень 10-15 мкмоль/л, високим – більше 15 мкмоль/л. Розрізняють легку ГГЦ – рівень гомоцистеїну 15-30 мкмоль/л; середню ГГЦ – 31-100 мкмоль/л; тяжку ГГЦ – більше 100 мкмоль/л.

Висока поширеність зазначених вище мутацій та ГГЦ в популяції приводить до накопичення значної частки осіб з одночасним носійством кількох порушень (наприклад, мутації по фактору V Лейден та протромбіну чи по МТГФР), що істотно збільшує ризик тромбозів для таких індивідуумів.

За результатами наших досліджень, в групі здорових мешканців Подільського регіону поширеність Лейденської мутації складає 2,9%, поліморфізм по протромбіну G20210A – 1,5% та МТГФР C677T – 40% (10% гомозигот) без чіткого превалювання серед чоловіків та жінок. В групі хворих з венозними тромбозами відбувається накопичення мутацій по фактору V Лейден, протромбіну G20210A та МТГФР. Характерною відмінністю групи хворих з венозними тромбозами від контрольної групи є поява носіїв з комбінованими генетичними порушеннями (8%), при цьому найбільш часто поєднується лейденська мутація та поліморфізм по МТГФР. Поширеність ГГЦ у хворих з венозними тромбозами становить біля 30%, порівняно з 10% у здорових осіб.

Антифосфоліпідні антитіла (АФА). Оскільки однією з причин спонтанного тромбоутворення є антифосфоліпідний синдром (первинний або набутий), визначення АФА входить до програми скринінгу на тромбофілію.

АФА відносяться до імуноглобулінів класів IgG та IgM, рідше IgA. Визначають аутоантитіла до кардіоліпіну, фосфатидилсерину, β_2 -глікопротеїну I (табл. 4), причому антитіла проти β_2 -глікопротеїну I є більш специфічними, ніж антитіла до фосфоліпідів. Лабораторним підтвердженням антифосфоліпідного синдрому є виявлення високого вмісту АФА в сироватці крові як мінімум 2 рази з інтервалом не менш, ніж 6 тижнів. Позитивним вважається результат, коли вміст АФА в 2 рази (і більше) вище норми (АФА завжди присутні в сироватці здорових осіб в низькому титрі).

Таблиця 4. Спектр антифосфоліпідних антитіл, які виявляють в сироватці крові хворих з антифосфоліпідним синдромом

Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою ІФА, де в якості антигену використовується кардіоліпін	Кардіоліпінові АТ
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до інших фосфоліпід-зв'язуючих білків
Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою фосфоліпід-залежних коагуляційних тестів (вовчаківий антикоагулянт)	АТ до протромбіну
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до фактору V
	АТ до фактору X
	АТ до фосфоліпідів

III. Клінічні приклади оцінки гемостазу у хворих з ХХН V Д ст., що перебувають на програмному гемодіалізі

На сьогодні в клінічній практиці не існує чітких методичних рекомендацій з лабораторної діагностики тромбофілій та контролю ефективності антитромботичної терапії. У зв'язку з цим, потрібен правильно розроблений алгоритм лабораторної діагностики, який дасть можливість не тільки прогнозувати можливий розвиток тромботичних ускладнень у хворих, що перебувають на програмному гемодіалізі, але й проводити контроль ефективності терапії на всіх етапах лікування.

Проведено аналіз стану системи зсідання крові у 88 хворих віком від 26 до 65 років. Середній строк перебування на гемодіалізі склав $7,41 \pm 1,01$ року. Всім обстеженим хворим був виставлений діагноз ХХН V Д ст. на тлі гломерулонефриту. Кров для аналізу забирали перед проведенням гемодіалізу. Для характеристики стану системи зсідання крові хворих визначали протромбіновий індекс (ПІ) з метою характеристики активації факторів зовнішнього шляху зсідання та виявлення рівноваги між про- та антикоагулянтами; екамуліновий індекс для виявлення функціонально неактивних форм протромбіну – маркера тромбінемії. Вміст фібриногену в плазмі крові (білок гострої фази згортання, показник гіперкоагуляції); розчинний фібрин (активація зсідання крові) як маркер тромбінемії; Д-димеру – для характеристики інтенсивності утворення та лізису фібринових згустків.

Маркер тромбозу; протеїну С для визначення антикоагулянтного потенціалу плазми крові та фактору X (один із факторів активації протромбіну).

Вміст фібриногену в плазмі крові хворих був підвищений у 86,7%, що свідчить про гіперкоагуляцію та ризик тромботичних ускладнень (рис 1).

Спостерігалась пряма залежність вмісту фібриногену та рівня розчинного фібрину ($r=0,69$). За результатами наших дослідження середній вміст в плазмі розчинного фібрину становив $3,68 \pm 0,15$ мкг/мл (N до $\div 3,0$ мкг/мл) в загальній групі. Однак, по цьому показнику хворих можна було розділити на три групи:

1. з нормальним рівнем РФ ($n=30$) – $2,47 \pm 0,064$ мкг/мл; (34,1%)
2. з підвищеним рівнем РФ ($n=31$) – $3,48 \pm 0,041$ мкг/мл; (35,2%)
3. з високим рівнем РФ ($n=27$) – $5,21 \pm 0,21$ мкг/мл; (30,7%) (рис. 2),
що підтверджує гіперкоагуляційний ризик, особливо в третій групі хворих.

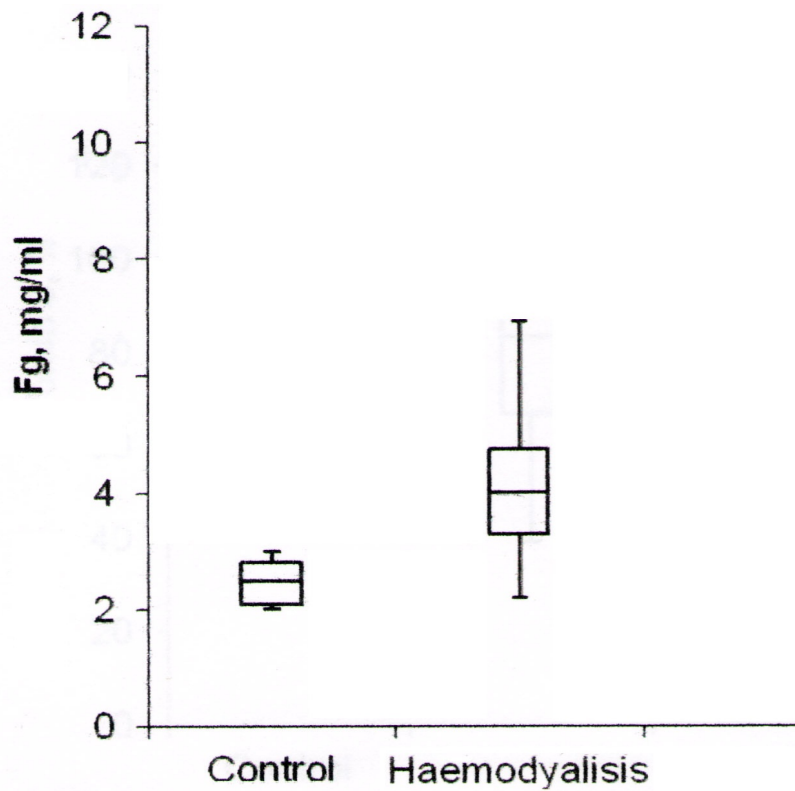


Рисунок 1.

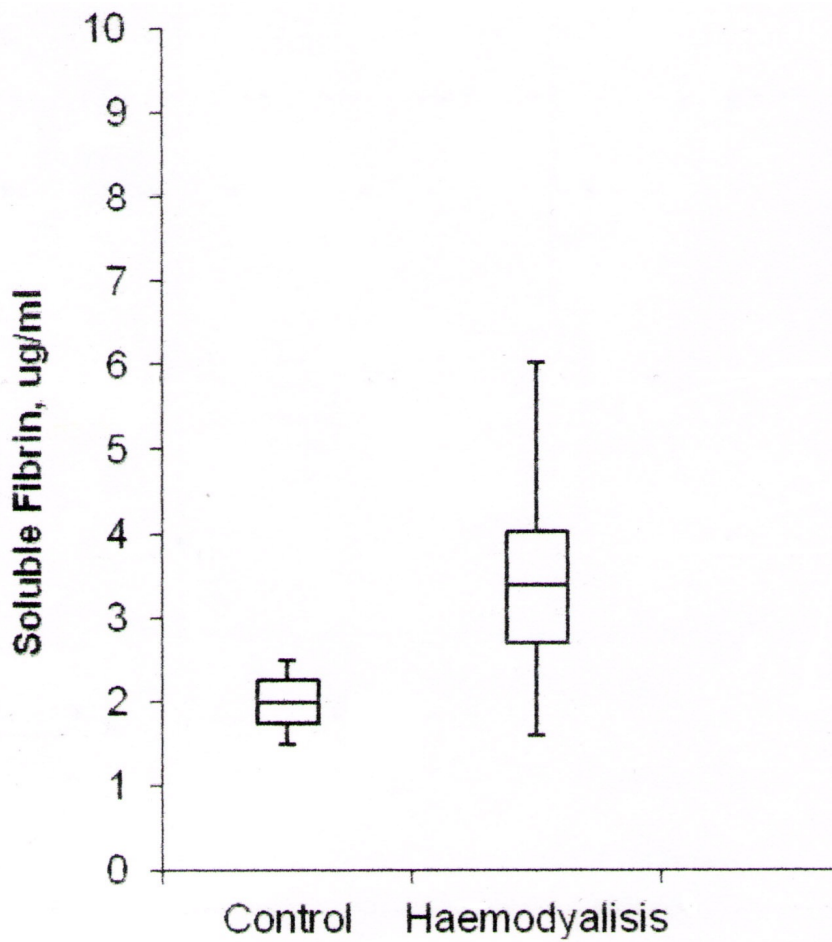


Рисунок 2.

Аналіз змісту Д-димеру в плазмі крові пацієнтів показав, що у 80,7% хворих цей показник відповідає нормі (рис. 3). Це означає, що у пацієнтів з підвищеним вмістом розчинного фібрину в плазмі знижена фібринолітична активність та порушена рівновага між системами сідання крові та фібринолізу. Взагалі, підвищений вміст Д-димеру вказує на утворення фібрину в плазмі крові та його лізис незалежно від локалізації тромбу, його об'єму та причин утворення. Вміст Д-димеру підвищується при цілому ряді патологій, тому, як окремої показник, є важливим діагностичним маркером не стільки розвитку тромбозу, скільки стану фібринолітичної ланки системи гемостазу. Однак, використання лише одного тесту на Д-димер недостатньо для адекватної оцінки клінічного стану системи гемостазу хворого, оскільки нормальний рівень Д-димеру при накопиченні розчинного фібрину не дозволяє виключити можливість розвитку тромботичних ускладнень. Тому в наших дослідженнях проведено не тільки визначення розчинного фібрину (РФ), але й зроблено порівняльний аналіз між вмістом РФ та Д-димеру. Останні свідчить, що для виявлення порушень коагуляційного балансу необхідно розглядати в динаміці рівні Д-димеру та РФ. Про активацію системи зсідання крові у хворих, що перебувають на гемодіалізі, свідчить також загальна тенденція до зниження рівня протеїну С в плазмі крові ($80,75 \pm 2,41\%$), при цьому у 21% хворих він був значно нижчий за норму ($60,22 \pm 2,07\%$) (рис. 4).

На основі наших досліджень були встановлені кількісні закономірності щодо вмісту функціонально неактивних форм протромбіну (ФНФП), про що було сказано вище. У хворих на гемодіалізі середнє значення екамулінового індексу (ЕІ) на 10% перевищували значення ПІ ($p < 0,05$), що вказує на накопичення ФНФП (можливо в деякій мірі і за рахунок не протокольного прийому варфарину). ЕІ корелює також з іншими показниками гемостазу, так в досліджуваній групі у 42% випадків підвищення ЕІ виявилось у осіб зі зниженим рівнем протеїну С ($r = 0,37$). Визначення вмісту ф. Х у плазмі крові показало тенденцію ($p > 0,05$) до зростання і в основному в випадках з низькими показниками Д-димера, що також свідчить на користь тромбінемії.

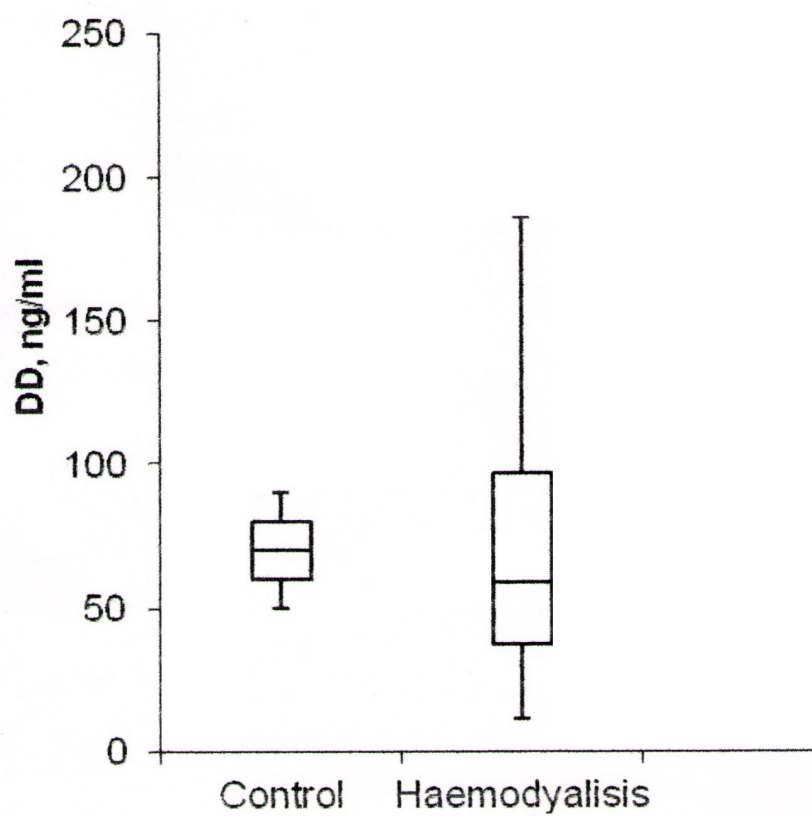


Рисунок 3.

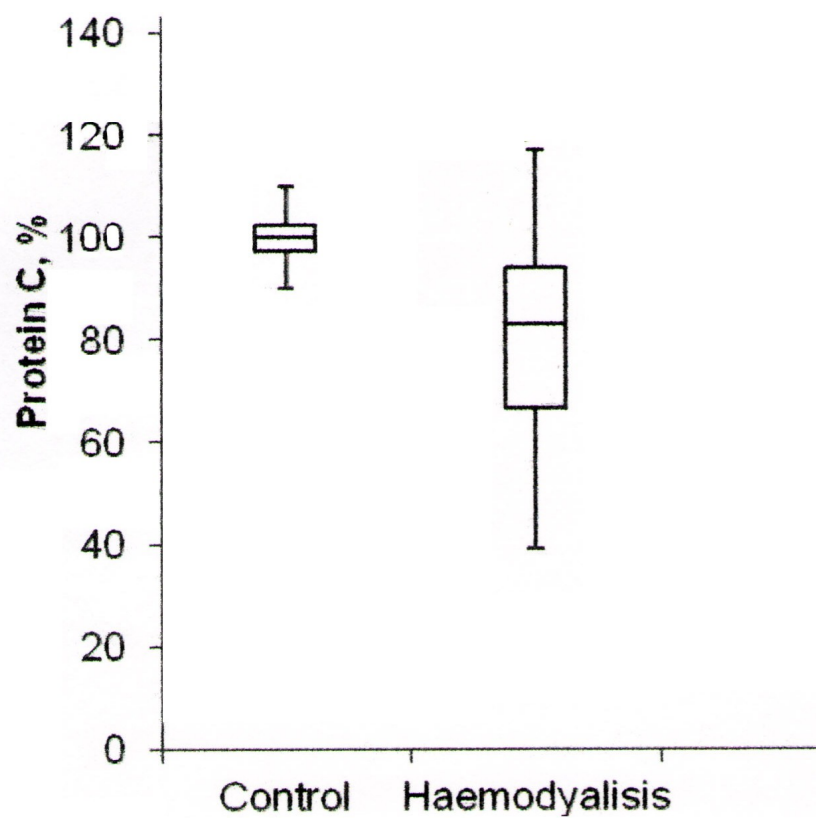


Рисунок 4.

Рекомендації

1. Для прогнозування розвитку тромботичних ускладнень необхідно на всіх етапах лікування одночасно визначати вміст розчинного фібрину – основного показника активації системи сідання крові та вмісту Д-димеру, присутність якого опосередковано вказує на активацію системи фібринолізу.

2. Зростання вмісту розчинного фібрину без одночасного підвищення концентрації в плазмі крові Д-димеру, свідчить про високу ймовірність розвитку тромботичних ускладнень.

3. Для пацієнтів, що перебувають на програмному гемодіалізі, до прийнятої лабораторної діагностики необхідно включати тести на вміст фібриногену, розчинного фібрину, Д-димеру та тести на визначення активності протеїну С.

4. Отримані дані свідчать про необхідність постійного лабораторного контролю стану системи гемостазу пацієнтів з метою попередження тромбозів та контролю ефективності лікування.

Список літератури

1. Долгов В. В., Свирин П. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирин. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. – 227 с.
2. Современные представления о системе гемостаза / Г. Л. Волков, Т. Н. Платонова, Савчук А. Н. [та ін.]. – Київ: Наукова думка, 2005. – 292 с.
3. Тест-система імуноферментна для кількісного визначення розчинного фібрину в плазмі крові людини: Патент №69283, Україна, МПК А61К39/44. – Заявл. 05-10.11; опубл. 25.04.2012, Бюл. №8 / С. В. Комісаренко, Е. В. Луговської, І. Н. Колеснікова, М. Я. Співак, П. Г. Гриценко, Л. О. Ганова, Н. Е. Луговська та ін.
4. Тест-система імуноферментна для кількісного визначення Д-димеру в плазмі крові людини: Патент №69284, Україна, МПК А61К39/44 заява. 05-10.11; опубл. 25.04.2012, Бюл. №8 / С. В. Комісаренко, Е. В. Луговської, І. М. Колеснікова та ін.
5. Луговської Е. В. Розчинний фібрин. Молекулярна структура і кількісне визначення / Е. В. Луговської, П. Г. Гриценко, Н. Е. Луговська, І. Н. Колеснікова, С. В. Комісаренко // Лабораторна діагностика. – 2006. – Т.37, №3. – С. 11-16.
6. Платонова Т. М. Выделение и свойства активатора протеина С из яда щитомордника обыкновенного (*Agkistrodon halys halys*) / Т. М. Платонова, О. В. Горницька // Биомед. химия. – 2003. – Т. 49, №5. – С. 470-478.
7. Платонова Т.Н. Оценка информативности и прогностической значимости традиционных скрининговых и дополнительных лабораторных тестов для диагностики тромбофилии / Т. Н. Платонова, Н.В. Заичко, Т.М. Чернышенко, О.В. Горницкая, В.И. Грищук // Лабораторна діагностика. – 2010. – Т. 54, №4. – С. 3-10.
8. Heit J. A. Thrombophilia: common questions on laboratory assessment and management // Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. – 2007. – №1. – P. 127-135.

Підписано до друку 17.10.2017 р.
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Гарнітура Times New Roman. Друк різнографічний.
Умовн. друк. арк. 2,1
Замовлення № 312
Тираж 100 прим.

Виготовлювач ФОП Рогальська І. О.
м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 145
тел.: (0432) 43-51-39, 65-80-80
E-mail: dilo_vd@mail.ru
Свідоцтво ВОЗ № 635744 від 01.03.2010 р.