

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(4)-08

УДК: 616.12-005.4:616.132.2-007.271-089.81

РАННІ МАРКЕРИ ТРОМБІНЕМІЇ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ ТА КОРОНАРНОЮ АНГІОПЛАСТИКОЮ

Сторожук Н.В.², Чернишенко Т.М.³, Сторожук Б.Г.², Луговської Е.В.³, Сторожук Л.О.¹, Костюченко О.П.³, Платонова Т.М.³

¹НДІ реабілітації інвалідів 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),

³Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601)

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

Статтю отримано 20 вересня 2018 р.; прийнято до друку 30 жовтня 2018 р.

Анотація. Пошук ранніх маркерів розвитку тромбінемії у хворих з ішемічною хворобою серця (ІХС) та коронарною ангіопластиком має важливе значення для профілактики рестенозу/тромбозу стента. Мета - визначення ранніх маркерів тромбінемії у хворих з ІХС та коронарною ангіопластиком. У 92 хворих (78 чоловіків та 14 жінок) з ІХС та коронарною ангіопластиком, з яких у 33 спостерігався рестеноз стента в анамнезі, визначили функціонально неактивні форми протромбіну (ФНФП), розчинний фібрин (рФ), міжнародне нормалізаційне відношення (МНВ) та активованій частково тромболітичний час (АЧТЧ). Статистичну обробку результатів досліджень виконували за допомогою методів варіаційної статистики. ФНФП, визначені за співвідношенням ЕІ/ПІ у даній категорії хворих, достовірно підвищені, як і рівень рФ. При цьому у хворих з рестенозом в анамнезі концентрації рФ достовірно вищі, ніж у хворих без оклюзії. Встановлено, що АЧТЧ у хворих з рестенозом достовірно подовжений, що може бути свідченням активації антикоагуляційної системи організму на ранніх стадіях передтромбозу. Окремо взяті показники ЕІ, ПІ, МНВ, АЧТЧ, в умовах не призначення прямих чи непрямих антикоагулянтів, не є інформативними. Необхідна комплексна оцінка гемостазу для виявлення ранніх маркерів тромбінемії (ЕІ/ПІ, МНВ, АЧТЧ, рФ).

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, коронарна ангіопластика, рестеноз, гемостаз, ФНФП, рФ.

Вступ

Лікування хворих з ішемічною хворобою серця (ІХС) із застосуванням інвазивних методів, а саме ендovasкулярних технологій, останнім часом стало буденним [6].

Разом з тим, впровадження нанотехнологічних сучасних стентів, подвійної антиагрегантної терапії, нових антикоагулянтів, не запобігає в повній мірі такому ускладненню коронарної ангіопластики, як рестеноз стента. Так, відомо, що виникнення рестенозу в місці імплантації стента за перший рік спостереження складає від 1% до 8%, яке призводить до повторних інфарктів та раптової смерті [5].

Одним із механізмів виникнення рестенозу є процес тромбоутворення, який відбувається на тлі еластичного ремоделювання коронарної артерії та гіперплазії її інтими. Останнє зобов'язує більш досконало дослідити зміни в системі гемостазу, як одній із складових тромбоутворення [8] та визначити ранні маркери тромбінемії у цієї категорії хворих.

Відомо, що одним із основних показників стану гіперкоагуляції є розчинний фібрин, який являє собою олігомерні комплекси фібрину, фібриногену та продуктів деградації фібрину/фібриногену. Накопичення у плазмі крові розчинного фібрину свідчить про активацію системи згортання та порушення динамічної рівноваги у функціонуванні процесів згортання крові та фібринолізу [1]. Також відомо, що за тромбофілічного стану в плазмі крові утворюються функціонально не активні форми

протромбіну, як результат дії тромбіну на протромбін. Визначення таких форм протромбіну можливе за співвідношенням екамулінового та протромбінового індексів. Як свідчать літературні дані, цей індекс тісно корелює з іншими показниками гемостазу, в тому числі з розчинним фібрином [7].

При накопиченні функціонально не активних форм протромбіну (ФНФП) в плазмі крові, екамуліновий індекс буде перевищувати протромбіновий. Досліджено також, що при переважанні екамулінового індексу над протромбіновим більш ніж на 10%, рівень ФНФП становить 1,2 мкг/мл [4].

Таким чином, визначення ланок гемостазу на етапах накопичення перетворення протромбіну у тромбін, а фібриногену у фібрин можуть стати ранніми маркерами тромбінемії.

Мета роботи - визначення ранніх маркерів тромбінемії у хворих з ІХС та коронарною ангіопластиком.

Матеріали та методи

Обстежено 92 хворих (78 чоловіків та 14 жінок) від 34 до 75 років з ІХС та коронарною ангіопластиком, у 33 з яких мав місце рестеноз/тромбоз стента в анамнезі за період 2 роки.

Забір крові у хворих та донорів проводився за інформованої згоди пацієнта. Кров брали з вени натще з використанням атравматичного джгута у вакутайнер з вмістом 3,8% розчину цитрату натрію та змішували без

Таблиця 1. Показники гемостазу у хворих з ІХС та коронарною ангіопластиком.

№ з/п	Групи хворих	n	Показники гемостазу					
			ПІ, %	ЕІ, %	МНВ, од.	рФ, мкг/мл	ЕІ/ПІ, %	АЧТЧ, с.
1.	Контроль	10	100,5±2,05	100,01±2,01	1,05±0,03	2,65±0,37	99,51±2,03	45,00±2,00
2.	Загальна група	92	100,02±1,11	111,71±1,47*	1,01±0,01	4,67±0,36*	111,69±1,29*	47,97±0,96
3.	Хворі з рестенозом	33	97,66±1,62	109,59±2,56*	1,00±0,02	5,66±0,72*	112,22±2,09*	51,44±1,64
4.	Хворі без оклюзії	59	101,2±1,42	112,67±2,09*	1,00±0,015	4,13±0,31*	111,33±1,76*	45,71±1,28
5.	p	-	-	-	-	p ₃₋₄ <0,05	-	p ₃₋₄ <0,01

Примітка. * - достовірність з контролем p<0,05.

струшування. Формені елементи осаджували шляхом центрифугування протягом 20 хв. з прискоренням 1200-1400 g. Супернатант (плазма крові) переносили в пробірки Еппендорфа.

Визначення маркеру активації системи згортання крові - розчинного фібрину (рФ) проводили за методикою бісайтового імуноферментного кількісного визначення продуктів плазмінового лізису фібрину, у якому в якості "catch" антитіл використовувались моноклональні антитіла ІІІ-Зв, а в якості "tag" - моноклональні антитіла ІІ-4d [3].

Одночасно з розчинним фібрином у хворих визначали протромбіновий індекс (ПІ), екамуліновий індекс (ЕІ) та їх співвідношення, а також міжнародне нормалізоване відношення (МНВ).

Для визначення протромбінового часу (ПЧ) у скляну конічну пробірку вносили 0,1 мл плазми крові та прогрівали протягом 1 хв. при температурі 37°C. Співвідношення протромбінового часу донора до часу пацієнта визначало протромбіновий індекс [4]. Екамуліновий час (ЕЧ) вивчали в тих же температурних умовах, при додаванні до 0,1 мл плазми крові 0,1 мл 0,025 М хлору кальцію та 0,1 мл екамуліну (фермент-активатор протромбіну з отрути ефі багатолускової (*Echis carinatus multisquamatus*)) і фіксували час зсідання плазми. Екамуліновий індекс отримували, як співвідношення екамулінового часу донора до часу пацієнта [4]. МНВ визначали за формулою:

$$МНВ = (ПЧ \text{ пацієнта} / ПЧ \text{ стандарт}) / МІЧ,$$

де МІЧ - міжнародний індекс чутливості тромбoplastину. Тест визначення активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ) проводили з використанням АЧТЧ - реагенту фірми "Ренам" [2].

Статистичну обробку результатів досліджень виконували за допомогою методів варіаційної статистики.

Результати. Обговорення

При оцінці стану системи гемостазу у досліджуваної категорії хворих було встановлено, що окремо взяті показники ПІ та МНВ відповідають належним значенням, як у загальній групі, так і у хворих з рестенозом в анамнезі (табл. 1). Натомість показники ЕІ у всіх групах були достовірно підвищеними в межах 10%, наслідком чого є збільшення екамуліново-протромбінового співвідно-

шення (p<0,001), яке відповідає концентрації ФНФП на рівні від 1,2 мкг/мл. Необхідно зазначити, що кількість таких хворих у загальній групі склала 49 чоловік (53,3%) із них 20 з рестенозом в анамнезі (40,8%) та 29 без оклюзії (59,2%). Паралельне визначення часу зсідання крові в тесті АЧТЧ, при значній дисперсії результатів у всіх групах, засвідчило достовірне його подовження у хворих з рестенозом, у порівнянні з такими без оклюзії (p<0,001), при тому, що антикоагулянти прямої дії хворі на той час не приймали. З метою виявлення дисбалансу між всіма ланками системи зсідання крові, логічним було визначення концентрації розчинного фібрину, як одного з основних попередників тромбозу та проведення комплексного аналізу стану гемостазу. Як свідчать результати досліджень, рівень розчинного фібрину у всіх хворих підвищений майже у 2 рази, відносно контролю (p<0,001), однак у групі з рестенозом концентрація рФ була достовірно вищою, ніж у групі без оклюзії (p<0,05).

Виходячи з отриманих результатів, можливо констатувати, що у хворих з ІХС та ангіопластиком таке ускладнення, як рестеноз/тромбоз стента, відбувається на тлі більш значних порушень в системі гемостазу. З одного боку ці порушення пов'язані з накопиченням ФНФП, про що свідчить ЕІ та його співвідношення з ПІ, а з другого - значне збільшення рівня розчинного фібрину. Цікавим є той факт, що у даній категорії хворих не відбувається скорочення часу АЧТЧ, натомість він навіть подовжується, така парадоксальна відповідь системи гемостазу може бути непрямым свідченням захисної реакції антикоагулянтної системи на ранній стадії передтромбозу.

Таким чином, наявність в крові високого рівня рФ та накопичення ФНФП є досить ранніми інформативними маркерами активації згортаючої системи крові у хворих з ІХС та коронарною ангіопластиком. Останнє дає можливість своєчасно індивідуально реагувати на зміни гемостазу та контролювати антикоагулянтну терапію.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. ФНФП є одним із ранніх маркерів тромбінемії у хворих з ІХС та коронарною ангіопластиком.
2. Хворі, у яких відмічався рестеноз/тромбоз стенту в анамнезі, перебувають у зоні тромботичного ризику за рахунок більш значного дисбалансу в системі гемостазу.

3. Достовірне зростання концентрації рФ, поряд з накопиченням ФНФП у досліджуваної категорії хворих, може слугувати діагностичною компонентою тромбофілії.

Виявлення простих інформативних маркерів тромбемії дасть можливість розробити в подальшому удосконалені протоколи діагностики, профілактики та лікування даної категорії хворих.

Список посилань

1. Волков, Г. Л., Платонова, Т. Н., Савчук, А. М., Горницькая, О. В., Чернышенко, Т. М., & Краснобрижая, Е. Н. (2005). *Современные представления о системе гемостаза*. Киев: Наукова думка.
2. Долгов, В.В., Свиринов, П.В. (2005). *Лабораторная диагностика нарушений гемостаза*. Тверь: "Триада".
3. Луговської, Е. В., Комисаренко, С. В., Платонова, Т. Н., Рубленко, А. М., Фіщенко, В. О., Колеснікова, І. М. ... Співак, М. Я. (2013). Визначення вмісту розчинного фібрину та Д-димеру для прогнозування тромботичних ускладнень за ендопротезування кульшового суглоба. *Лабораторна діагностика*, 2 (54), 3-8.
4. Сторожук, Л. О., Шевчук, С. В., Сторожук, Б. Г., Заїчко, Н. В., Луговської, Е. В., Платонова, Т. М. ... Сторожук, Н. В. (2017). *Клініко-лабораторна діагностика тромбофілії у хворих з ХХН ВД стадії, що перебувають на програмному гемодіалізі (методичні рекомендації)*. Вінниця: ФОП Рогальська І.О.
5. Федорченко, А. Н., Осиев, А. Г., Протопопов, А. В., Столяров, Д. П. & Кочкина, К. В. (2018). Частота развития рестеноза после ангиопластики окклюзирующих и неокклюдизирующих пораженных коронарных артерий. *Кубанский научный медицинский вестник*, 6 (105), 5-9.
6. Furkalo, S. N. (2012). Коронарное стентирование у больных стабильными формами ИБС. Данные доказательной медицины и собственные результаты. *Кардиология: от науки к практике*, 2, 96-106.
7. Шевчук, С. В., Горницька, О. В., Чернышенко, Т. М., Краснобрижая, Е. М., Корольова, Д. С., Чернышенко, В. О. & Платонова, Т. М. (2010). Комплексна діагностика тромбофілії за системного червоного вовчачка. *Лабораторна діагностика*, 1 (51), 3-7.
2. Dolgov, V. V. & Svirin, P. V. (2005). *Laboratornaya diagnostika narusheniy gemostaza [Laboratory diagnostics of hemostasis disorders]*. Tver': Triada.
3. Luhovs'koy, E. V., Komisarenko, S. V., Platonova, T. M., Rublenko, A. M., Fishchenko, V. O., Kolesnikova, I. M., Lytvynova, L. M. (2013). Vyznachennya vmistu rozchynnoho fibrynu ta D-dymeru dlya prohnozuvannya trombotychnykh uskladnen' za endoprotezuвання kul'shovoho suhloba [Determination of soluble fibrin and D-dimer contents for prognosis of thrombotic complications]. *Laboratorna diahnostryka - Laboratory diagnostics*, 2 (64), 3-8.
4. Storozhuk, L. O., Shevchuk, S. V., Storozhuk, B. G., Zaichko, N. V., Luhovs'koy, E. V., Platonova, T. M. ... Storozhuk, N. V. (2017). *Kliniko-laboratorna diahnostryka trombofiliiy u khvorykh z KHKN VD stadiyi, shcho perebuvayut' na prohramnomu hemodializi [Clinical and laboratory diagnostics of thrombophilia in patients with CKD of VD stage, which are on program hemodialysis]* (Metodychni rekomendatsiyi - Guidelines). Vinnytsya: FOP Rohal's'ka I.O.
5. Fedorchenko, A. N., Osiev, A. G., Protopopov, A. V., Stoliarov, D. P. & Kochkina, K. V. (2018). Chastota razvitiya restenoza posle angioplastiki okklyuziruyushchikh i neokklyuziruyushchikh porazheniy koronarnykh arteriy [The incidence of restenosis after angioplasty of occlusive and non-occlusive coronary arteries]. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik - Kuban scientific medical bulletin*, 6 (105), 5-9.
6. Furkalo, S. N. (2012). Koronarnoye stentirovaniye u bol'nykh stabil'nyimi formami IBS. Danyye dokazatel'noy meditsiny i sobstvennyye rezul'taty [Coronary stenting in patients with stable forms of ischemic heart disease. Dany's evidence-based medicine and its own results]. *Kardiologiya: ot nauki k praktike - Cardiology: from science to practice*, 2, 96-106.
7. Shevchuk, S. V., Hornyts'ka, O. V., Chernyshenko, T. M., Krasnobryzha, YE. M., Korol'ova, D. S., Chernyshenko, V. O. & Platonova, T. M. (2010). Kompleksna diahnostryka trombofiliiy za systemnoho chervonoho vovchaka [Integrated diagnosis of thrombophilia for systemic lupus erythematosus]. *Laboratorna diahnostryka - Laboratory diagnostics*, 1 (51), 3-7.

References

1. Volkov, G. L., Platonova, T. N., Savchuk, A. M., Gornickaya, O. V., Chernyshenko, T. M., & Krasnobrizhaya, E. N. (2005). *Sovremennye predstavleniya o sisteme gemostaza [Contemporary ideas about the hemostasis system]*. Kyiv: Naukova dumka.

РАННИЕ МАРКЕРЫ ТРОМБИНЕМИИ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И КОРОНАРНОЙ АНГИОПЛАСТИКОЙ

Сторожук Н.В., Чернышенко Т.М., Сторожук Б.Г., Луговской Э.В., Сторожук Л.А., Костюченко Е.П., Платонова Т.Н.

Аннотация. Поиск ранних маркеров развития тромбемий у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) и коронарной ангиопластикой имеет важное значение для профилактики рестеноза/тромбоза стента. Цель - определение ранних маркеров тромбемии у больных с ИБС и коронарной ангиопластикой. У 92 больных (78 мужчин и 14 женщин) с ИБС и коронарной ангиопластикой, из которых у 33 наблюдался рестеноз стента в анамнезе, определили функционально неактивные формы протромбина (ФНФП), растворимый фибрин (рФ), международное нормализационное отношение (МНО) и активированное частично тромбoplastиновое время (АЧТВ). Статистическую обработку результатов исследований выполняли с помощью методов вариационной статистики. ФНФП, определенные по соотношению ЭИ/ПИ, у данной категории больных достоверно повышены, как и уровень рФ. При этом у больных с рестенозом в анамнезе концентрации рФ достоверно выше, чем у больных без окклюзии. Установлено, что АЧТВ у больных с рестенозом достоверно удлинено, что может быть свидетельством активации антикоагулянтной системы организма на ранних стадиях предтромбоза. Отдельно взятые показатели ЭИ, ПИ, МНО, АЧТВ, в условиях не назначения прямых или непрямых антикоагулянтов, не являются информативными. Необходима комплексная оценка гемостаза для выявления ранних маркеров тромбемий (ЭИ/ПИ, МНО, АЧТВ, рФ).

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, коронарная ангиопластика, рестеноз, гемостаз, ФНФП, рФ.

INITIATORY MARKERS OF THROMBINEMIA IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AND CORONARY ANGIOPLASTY

Storozhuk N.V., Chernyshenko T.M., Storozhuk B.H., Luhovskoy E.V., Storozhuk L.O., Kostyuchenko E.P., Platonova T.M.

Annotation. *The search for initiatory thrombinemia markers in patients with ischemic heart disease (IHD) and coronary angioplasty is significant for preventing stenting restenosis/thrombosis. Objective - determination of initiatory markers of thrombinemia in patients with ischemic heart disease and coronary angioplasty. Functionally inactive forms of prothrombin (FIFP), soluble fibrin (sF), international normalized attitude, and activated partial thromboplastin time were found out in 92 patients (78 men and 14 women) with coronary angioplasty, of which 33 cases had a history with stent placental restenosis. Statistical processing was performed by methods of variation statistics and correlation analysis. FIFP, which were determined by the ratio of ecomulsion index/prothrombin index in this category of patients, is veraciously increased, as well as the level of sF. At the same time the patients with restenosis in the history had significantly higher concentration of sF than the patients without occlusion. It is established that activated partial thromboplastin time in patients with restenosis is reliably prolonged, which may be evidence of activation of the anticoagulation system in the initiatory stages of prethrombosis. Individually taken indices of ecomulsion index, prothrombin index, international normalized attitude, activated partial thromboplastin time, in the absence of the appointment of either direct or indirect anticoagulants, are not informative. A complex assessment of hemostasis is required to detect initiatory thrombinemia markers (ecomulsion index/prothrombin index, international normalized attitude, activated partial thromboplastin time, sF).*

Keywords: *ischemic heart disease, coronary angioplasty, restenosis, hemostasis, functionally inactive forms of prothrombin (FIFP), soluble fibrin (sF).*
