

системы гемостаза — ПС и антитромбина III — при различных патологиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Плазму крови пациентов с диагнозом системная красная волчанка (СКВ), женщин с осложненной беременностью и пациентов после эндопротезирования тазобедренного сустава предоставлены Украинским государственным НИИ реабилитации инвалидов МЗ Украины (г. Винница), Киевским национальным университетом им. А.А. Богомольца и Винницком национальном медицинском университете им. Н.И. Пирогова (кафедра травматологии и ортопедии) соответственно.

Плазму крови для анализа получали согласно описанной методике [1].

Определение концентрации фибриногена, растворимого фибрина выполняли согласно [4, 8].

Активность ПС определяли с помощью активатора ПС, полученного из яда щитомордника обыкновенного (*Agkistrodon halys halys*) с использованием хромогенного субстрата S2236 [5].

Активность антитромбина III проводили согласно инструкции фирмы “Ренам” (Россия, Москва).

Статистическую обработку полученных данных проводили по описанному методу [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами проведен анализ состояния системы свертывания крови пациентов с СКВ (n=199), эндопротезированием тазобедренного сустава (n=55) и женщин с осложненной беременностью (n=138). В ходе работы использовали диагностические тесты, характеризующие состояние плазменного звена системы гемостаза (активированное частично тромбoplastическое время — АЧТВ, определение концентрации фибриногена, растворимых фибрин мономерных комплексов, активности ПС и антитромбина III).

В клинической практике для установления уровня ПС в плазме крови существует функциональный тест АЧТВ с использованием нефизиологических активаторов ПС из яда змей семейства *Crotalidae* [16]. Активированный ПС совместно с его кофактором протеином S инактивирует факторы свертывания крови Va и VIIIa, что приводит к удлинению времени свертывания плазмы крови в тесте АЧТВ. При дефиците ПС время свертывания плазмы крови в тесте

не удлиняется относительно контроля [2, 5]. В отличие от иммунологических тестов, использование которых позволяет выполнить только количественное определение содержания в плазме крови ПС, тест с использованием активатора ПС и реагента АЧТВ характеризует функциональную активность данного белка.

В отдельных случаях выполнение данного теста затруднено или невозможно из-за значительного замедления времени свертывания в тесте АЧТВ, которое связано с дефицитом факторов свертывания крови или накоплением в плазме крови ингибиторов свертывания. В таких случаях используют амидолитический тест с применением хромогенного субстрата, который дает возможность определить количество потенциально способного к активации ПС. Сравнивая результаты коагулологического и амидолитического тестов можно выявить резистентность фактора Va к действию активированного ПС.

Активность протеина С при осложненной беременности. Физиологическая беременность в III триместре может сопровождаться гиперкоагуляцией. Это, прежде всего, связано с увеличением содержания компонентов прокоагулянтного звена системы гемостаза в сочетании со снижением фибринолитической и антикоагулянтной активности (АТ III и ПС). Кроме того, скорость кровотока в III триместре в венах нижних конечностей снижается, что наряду с гиперкоагуляцией создает условия для развития тромбоза [6].

Нами проведен анализ состояния антикоагулянтного звена системы гемостаза женщин в третьем триместре беременности, которые отнесены к группе риска. Как показали результаты наших исследований, еще накануне родоразрешения в плазме крови беременных обнаружено накопление маркера тромбофилии — растворимого фибрина (у 39% пациенток — при осложненной беременности и у 60% пациенток — при гестозах) и повышенное потребление АТ-III и ПС, что свидетельствует о выраженной активации системы свертывания крови (табл. 1). Из представленных данных следует, что на 2-й и 3-й стадиях гестоза уровень ПС и АТ III снижены. Однако, потребление АТ-III, в отличие от ПС, происходит в меньшей степени.

Анализ состояния антикоагулянтного звена системы гемостаза беременных женщин до операции кесарева сечения показал значительное снижение активности ПС и АТ-III, что связано с их интенсивным потреблением. После операции

Сравнительная характеристика активности протеина С и антитромбина III при осложненной беременности

Патологии		Активность протетна С, %	Активность антитромбина III, %
Осложненная беременность (гипоксия, тиреоз, варикоз), n=26		73,7±12,8	92,0±14,8
Гестоз	1-я стадия n=13	93,7±3,4	93,1±3,5
	2-я стадия n=12	58,8±3,4	74,3±8,9
	3-я стадия n=7	39,2±4,3	70,0±3,8
Кесарево сечение, n=80	до операции	66,8±14,7	71,3±16,5
	после кесарево сечения с тромбопрофилактикой	79,9±4,5	98,5±3,1

Примечание. Активность протеина С и антитромбина III в норме составляет 100±20%.

при проведении антитромботической терапии низкомолекулярными гепаринами активность АТ-III нормализуется, тогда как активность ПС остается низкой (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что для профилактики развития тромбозов при осложненной беременности необходимо контролировать активность ПС на всех этапах наблюдения и родоразрешения, поскольку ПС является белком быстрого реагирования: при любых нарушениях, обусловленных активацией системы свертывания крови, наблюдается его потребление.

Активность протеина С при системной красной волчанке. СКВ — аутоиммунное заболевание соединительной ткани и кровеносных сосудов, сопровождающееся развитием нарушений в системе гемостаза. СКВ в 50% случаев сопряжена с антифосфолипидным синдромом (АФЛС) — иммунопатологическим процессом, который характеризуется образованием аутофосфолипидных антител (АФА) и чаще всего проявляется

артериальными, венозными, микрососудистыми тромбозами и акушерскими патологиями [9, 10, 18].

Выявление ранних маркеров тромбофилии при СКВ затруднено из-за наличия АФА, оказывающих на систему гемостаза ингибиторный эффект [2]. Накопление АФА приводит к удлинению времени свертывания плазмы крови в фосфолипидзависимых хронометрических тестах. С накоплением ингибиторов свертывания крови связано значительное удлинение времени свертывания плазмы крови в тесте АЧТВ у 41% больных. В связи с этим определить активность ПС функциональным коагуляционным методом невозможно. При проведении анализа состояния антикоагулянтного звена системы гемостаза пациентов с СКВ мы использовали амидолитический метод определения активности ПС и АТ-III.

Об активации системы свертывания крови больных СКВ свидетельствует накопление растворимого фибрина в плазме крови 66,7% больных. На рис. 2 представлены результаты определения

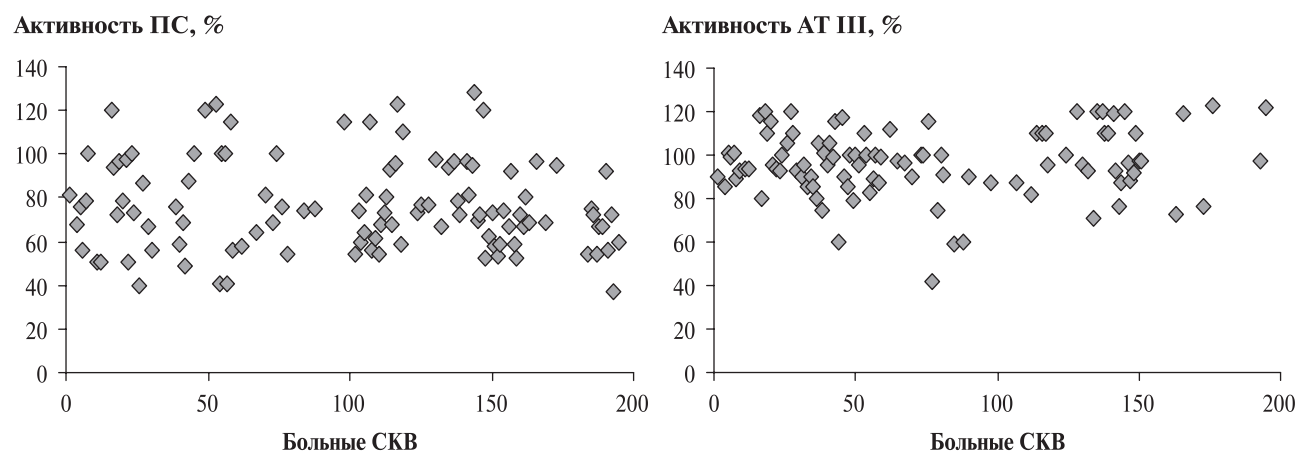


Рис. 2. Активность протеина С и антитромбина III в плазме крови больных системной красной волчанкой

Частота гиперфибриногемии, накопления растворимого фибрина, снижения активности протеина С в плазме больных системной красной волчанкой и системной красной волчанкой, сопровождающейся антифосфолипидным синдромом

Патология	Пациенты с диагнозом системной красной волчанкой, %				
	гиперфибриногемия	сокращение времени свертывания активированного частично тромбопластического времени	накопление растворимого фибрина	дефицит протеина С	дефицит АТ-III
Системная красная волчанка	40	19	38	40	25
Системная красная волчанка + антифосфолипидный синдром	79	38	65	76	21

активности ПС и А-ТIII в плазме крови больных при СКВ. Показано, что у 62% больных активность ПС снижена на 30–50%, тогда как активность АТ-III снижается только у 10% больных.

Проведенный сравнительный анализ показателей системы свертывания крови у больных при СКВ показал, что частота гиперфибриногемии, накопления растворимого фибрина, снижения активности ПС выше в группе с АФЛС, чем в случае его отсутствия (табл. 2).

Активность протеина С при эндопротезировании тазобедренного сустава. Эндопротезирование тазобедренного сустава относят к категории операций с высокой степенью риска послеоперационных тромбоэмболических осложнений [15, 20]. Существует риск развития тромбоза не только в первые дни после операции, но и в последующие несколько месяцев. В связи с этим еще на этапе дооперационного планирования

целесообразно определять вероятность развития венозного тромбоза и выбрать оптимальный алгоритм тромбопрофилактики.

Для характеристики степени активации системы свертывания крови пациентов, которым проведено эндопротезирование тазобедренного сустава, определяли содержание в плазме крови фибриногена и растворимого фибрина до операции и на 1-е, 3-и, 7-е сутки после операции. Для характеристики антикоагулянтного звена системы свертывания крови определяли активность ПС.

Проведенный анализ показал, что у 50% больных накануне операции содержание фибриногена и растворимого фибрина в плазме крови значительно превышает норму. После операции содержание уровня фибриногена повышено у 54% больных, растворимого фибрина у 76% больных, снижена активность ПС у 37% больных. Антитромботическая терапия препаратами низкомолекулярного гепарина на всех этапах лечения способствует снижению содержания маркеров тромбофилии в плазме крови пациентов после операции. Так, на 7-е сутки число больных со сниженной активностью ПС составляет менее 10% (рис. 3).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что вероятность развития тромбоза прямо пропорциональна степени снижения активности ПС, что свидетельствует о необходимости контроля его активности на всех этапах хирургического вмешательства и лечения при патологиях, связанных с развитием тромботических осложнений. Нами показано также, что эффективность антитромботической терапии можно контролировать не только по содержанию растворимого фибрина, но и по активности ПС.

Больные со сниженной активностью ПС, %

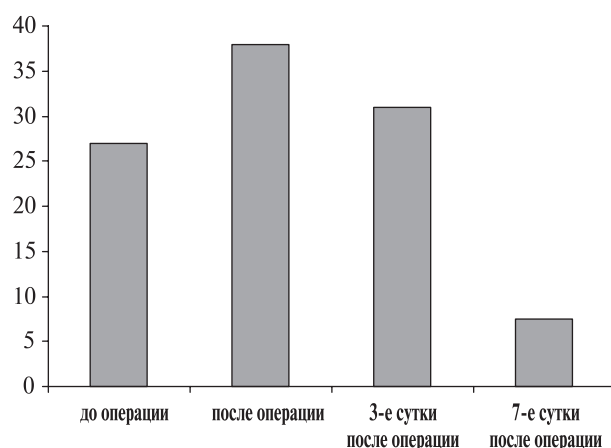


Рис. 3. Процент больных со сниженной активностью протеина С при эндопротезировании тазобедренного сустава

Таким образом, система ПС — регуляторная антикоагулянтная система. Изучение клинических проявлений нарушений в системе ПС у больных с венозными тромбозами необходимо для назначения медикаментозной терапии, оценки адекватности проводимого лечения, а также разработки принципов профилактики данной патологии.

При любых нарушениях, обусловленных активацией системы свертывания крови, активность антикоагулянта снижается за счет его потребления. Ранее нами показано, что в отличие от ПС, значительное потребление АТ-III при активации системы свертывания крови наблюдается лишь в критических случаях, например при инфаркте миокарда, сильных ожогах [1, 7].

Следовательно, именно снижение активности ПС, также как и накопление растворимого фибрина, мы относим к ранним маркерам тромботических осложнений и рекомендуем включать во все алгоритмы лабораторной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Діагностика порушень системи гемостазу при глибоких опіках* / Т.М. Платонова, О.М. Савчук, К.Г. Козинець, Л.М. Малинська // *Експерим. та клін. Фізіол. і біохімія*. — 2002. — № 2. — С. 44–47.
2. Долгов В.В., Свиринов П.В. *Лабораторная диагностика нарушений гемостаза*. — М.—Тверь: ООО "Издательство "Триада", 2005. — 227 с.
3. Куприенко Н. В., Пономарева О.А., Тихонов Д. В. *Статистика. Методы анализа распределений. Выборочное наблюдение: Учебное пособие*. — СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008: 133.
4. *Молекулярный состав растворимого фибрина и продуктов расщепления фибрина. Методы их количественного определения* / Э.В. Луговской, П.Г. Гриценко, Н.Э. Луговская, И.В. Колесникова, С.В. Комисаренко // *Гематол. и трансфузиология* — 2006. — Т. 51, № 5. — С. 39–43.
5. Платонова Т.Н., Горницкая О.В. *Выделение и свойства активатора протеина С из яда Щитомордника обыкновенного (Agkistrodon halys halys)* // *Биомед. химия*. — 2003. — Т. 49, № 5. — С. 470–478.
6. Сенчук А.Я., Венцовский Б.М. *Тромбоэмболические осложнения в акушерстве и гинекологии: монография*. — К.: Маком, 2003. — 360 с.
7. *Стан системи гемостазу при гострому інфаркті міокарду в ході лікування стрептокіназою* / Т.М. Платонова, І.М. Ровинська, О.М. Савчук, Є.М. Макогоненко, О.М. Пархоменко, Т.І. Іващенко, О.О. Скаржівський // *Лаб. діагностика*. — 2001. — № 1. — С. 3–6.
8. *Сучасні методи лабораторної діагностики внутрішньосудинного мікрозсідання крові. (методичні рекомендації)*. — К., 1994. — 22 с.
9. Abusamieh M., Ash J. *Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus* // *Cardiol. Rev.* — 2004. — Vol. 12, №5. — P. 267–275.
10. Brouwer J.L., Bijl M., Veeger N.J. et al. *The contribution of inherited and acquired thrombophilic defects, alone or combined with antiphospholipid antibodies, to venous and arterial thromboembolism in patients with systemic lupus*

erythematosus // *Blood*. — 2004. — Vol. 104, № 1. — P. 143–148.

11. Dahlbäck B., Villoutreix B.O. *Regulation of Blood Coagulation by the Protein C Anticoagulant Pathway. Novel Insights Into Structure-Function Relationships and Molecular Recognition* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — Vol. 25. — P. 1311–1320.
12. Esmon C.T. *Protein C anticoagulant system — anti-inflammatory effects* // *Semin. Immunopathol.* — 2012. — Vol. 34. — P. 127–132.
13. Esmon C.T. *Basic Mechanisms and Pathogenesis of Venous Thrombosis* // *Blood Rev.* — 2009. — Vol. 23, № 5. — P. 225–229.
14. Folsom A.R., Aleksic N., Wang L. et al. *Protein C, Anti-thrombin, and Venous Thromboembolism Incidence A Prospective Population-Based Study* // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2002. — Vol. 22. — P. 1018–1022.
15. Green L., Lawrie A.S., Patel S., Hossain F., et al. *The impact of elective knee/hip replacement surgery and thromboprophylaxis with rivaroxaban or dalteparin on thrombin generation* // *Br. J. Haematol.* — 2010. — Vol. 151, № 5. — P. 469–476.
16. *Hemostasis and animal venoms* / edited by H. Pirkle and F.S. Markland. — New York: Basel, 1985. — 628 p.
17. Kalafatis M., Egan J.O., Veer C. et al. *The regulation of clotting factors* // *Eukaryotic gene expression*. — 1997. — Vol. 7, № 3. — P. 241–280.
18. Martinez F., Forner M.J., Ruano M. et al. *Factors related to the risk of thrombosis in patients with lupus and antiphospholipid antibodies* // *Med Clin (Barc)*. — 2006. — Vol. 127, № 11. — P. 405–408.
19. Rosendorff A., Dorfman D.V. *Activated protein C resistance and factor V Leiden* // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2007. — Vol. 131. — P. 866–871.
20. Schindler O.S., Dalziel R. *Post-thrombotic syndrome after total hip or knee arthroplasty: incidence in patients with asymptomatic deep venous thrombosis* // *J. Orthop. Surg. (Hong Kong)*. — 2005. — Vol. 13, № 2. — P. 113–119.

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ПРОТЕЇНУ С ТА ЙОГО РОЛЬ В КЛІНІЧНІЙ ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ

Т.М. Платонова, О.В. Горницька, Т.М. Чернишенко,
Д.С. Корольова, В.І. Гришук, В.О. Чернишенко,
Е.В. Луговської

В результаті проведеного аналізу стану системи зсідання крові пацієнтів з ускладненою вагітністю, системним червоним вовчаком, ендопротезуванням кульшового суглоба показано, що зниження активності протеїну С є раннім маркером тромботичних ускладнень, в той час як зниження активності антитромбіну III спостерігається лише при значному порушенні балансу про- та антикоагулянтної ланок гемостазу. Аналіз отриманих результатів дозволяє рекомендувати визначення активності протеїну С в алгоритми лабораторної діагностики при хірургічних втручаннях та на всіх етапах лікування пацієнтів з загрозою тромботичних ускладнень.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE DETERMINATION OF PROTEIN C LEVEL IN DIAGNOSTICS

T.N. Platonova, O.V. Gornitska, T.M. Chernyshenko,
D.S. Korolova, V.I. Gryshchuk, V.O. Chernyshenko,
E.V. Lugovskoi

Blood coagulation system of patients with complicated pregnancy, systemic lupus erythematosus, and hip-replace-

ment therapy was analyzed. It was shown that the decrease of protein C level could be an early marker of thrombotic events. In the same time the drop in of antithrombin III level was observed only during severe imbalance between pro- and anti-coagulant branches of haemostasis. Analysis of the results allows us to include the determination of protein C level in complex diagnostic algorithms during surgery of patients with the risk of thrombotic events.

УДК 616-097.1/.4-053.2

**А.С. Прилуцкий, Д.А. Лесниченко,
В.А. Деев, Б.Г. Борзенко, А.К. Фролов**

НОРМЫ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgE У ДЕТЕЙ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

*Донецкий национальный медицинский
университет имени М. Горького
Кафедра клинической иммунологии,
аллергологии и эндокринологии*

Последние десятилетия отличаются бурным ростом частоты аллергических заболеваний во всем мире, в том числе обусловленных особенностями питания. Поэтому все больше внимания врачи и широкая общественность стали уделять пищевой аллергии. Причины резкого нарастания аллергических болезней связывают с серьезными изменениями экологии. Точные статистические данные о заболеваемости и летальности при пищевой аллергии отсутствуют, что можно объяснить трудностями объективной диагностики и установления аллергической природы заболевания, а также большими расхождениями в трактовке клинических реакций на прием пищевых продуктов. Предположительно в мире насчитывается примерно 220–520 млн человек, страдающих пищевой аллергией [5]. Поэтому, важной научно-практической задачей является разработка методов, позволяющих быстро и достоверно выявлять наличие у пациента сенсибилизации к определенному пищевому аллергену. Широко распространенные на сегодняшний день *in vivo* методы специфической алергодиагностики имеют ряд противопоказаний. Поэтому особую актуальность приобретает достоверная специфическая диагностика аллергии с определением причинных аллергенов в каждом конкретном случае. В то же время, международными консенсусами определено, что диагностика пищевой аллергии должна базироваться на определении специфических IgE антител [4, 6].

Недостатком наборов для определения специфических IgE является то, что интерпретация результатов обследования на наличие специфического IgE не учитывает возрастные колебания данного показателя, предлагая врачу руководствоваться обобщенной как для взрослых, так и для детей, трактовкой результатов. Указанная проблема может являться причиной гиподиагностики клинически значимой концентрации специфических антител к различным аллергенам при обследовании детей.

Целью исследования была оценка среднего уровня специфического IgE в сыворотке крови детей различных возрастных групп без аллергических реакций в анамнезе на примере таких распространенных продуктов, как яйцо куриное и молоко коровье, являющихся причиной более половины регистрируемых случаев пищевой аллергии у детей [1, 3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы сыворотки крови 93 детей в возрасте от 2 месяцев до 15 лет без наличия аллергии к яйцу куриному и коровьему молоку. В качестве контрольной группы обследовано 15 здоровых взрослых лиц. Все обследованные проходили анкетирование, с помощью которого выяснялись жалобы и анамнез, в том числе алергологический.

Определение уровня общего и специфических IgE к яйцу куриному и коровьему молоку в сыворотке крови обследованных проводилось с помощью разработанных первых отечественных тест-систем для определения общего, специфического IgE производства ООО “Укрмед-Дон”, город Донецк. Характеристика иммуноферментной тест-системы для определения специфического IgE представлена в табл. 1. Тест-система характеризуется высокой чувствительностью (0,1 МЕ/мл), позволяющей определять специфические IgE в концентрации ниже, чем в ряде зарубежных аналогов. Концентрация исследуемого показателя определялась исходя из калибровочной кривой, которая включена в состав тест-системы в готовом виде, и состоит из 5 точек с концентрацией IgE 0; 0,35; 3,5; 17,5; 100,0 МЕ/мл. Кроме того, была исследована корреляция уровня указанных антител с возрастом пациентов (метод Кендалла).

Проводимая при помощи программы “Med-Stat” статистическая обработка полученного материала включала анализ распределения. Рас-