

О.М. Савчук, М.Ш. Гамісонія, О.І. Кізім, Т.М. Платонова

Значимість деяких показників фібринолітичної системи в оцінці стану гемостазу

Вступ

Нормальний стан системи гемостазу забезпечується динамічною рівновагою між прокоагулянтною, антикоагулянтною та фібринолітичною ланками системи гемостазу. Порушення рівноваги між цими компонентами призводить до глибоких патологічних процесів, які є причиною багатьох захворювань організму.

Вагітність – фізіологічний стан, що супроводжується значними адаптаційними змінами у всіх органах і системах організму. За останні двадцять років виявили, що вагітність, яка проходить фізіологічно, супроводжується значними змінами в системі гемостазу вагітних. Ці зміни прийнято розуміти як фізіологічну адаптацію, котра необхідна для забезпечення цілісності гемоциркуляції матері та плоду. У разі вагітності, ускладненої акушерською або екстрагенітальною патологією ці зміни в системі гемостазу часто створюють загрозу тромбофілічних ускладнень [5, 12, 23, 31]. Наявність активації системи зсідання крові та пригнічення фібринолітичного потенціалу є важливими прогностичними біохімічними ознаками тромботичних ускладнень [23].

Рання діагностика тромботичних ускладнень в акушерській практиці залишається і нині однією з актуальних і невирішених проблем.

Метою нашої роботи є оцінка прогностичної значимості показників фібринолітичної ланки системи гемостазу для виявлення тромбофілічних тенденцій у жінок під час вагітності.

Методика

Досліджено стан системи гемостазу 80 жінок напередодні та після кесаревого розтину. Контрольну групу склали практично здорові донори крові.

Кров брали пункцією ліктьової вени натще і змішували з 3,8%-м розчином лимоннокислого натрію в пропорції 9:1. Для одержання плазми кров центрифугували при 1500g 30 хв [7].

Досліджували наступні показники системи гемостазу: активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий індекс, тромбіновий час, анцистроновий час, вміст фібриногену, протеїну С, антитромбіну III (АТIII) [7]. Активність фактора X системи зсідання крові визначали за допомогою хромогенного субстрату S_{2765} і активатора фактора X з отрути гадюки Рассела (фірма "Sigma", США). Вміст плазміногену, α_2 -антиплазміну (α_2 -АП) і АТ III визначали відповідно до методичних рекомендацій KABI Diagnostica із застосуванням хромогенних субстратів S_{2251} для плазміну і S_{2238} для тромбіну. Вміст аномальних форм протромбіну виявляли

за допомогою ферментного препарату “Екамулін”, отриманного з отрути змії *Echis Multisquamatus* [7]. Вміст α_2 -макроглобуліну (α_2 -М) і α_1 -анти-трипсину (α_1 -АТ) визначали відповідно до методики Веремеєнко та співавт. [2]. Визначали також активність тканинного активатора плазміногену [6]. Активність інгібітора тканинного активатора плазміногену першого типу (РАІ-1), визначали за методом Еріксона і співавт. [14], з деякими модифікаціями: реакційна суміш містила: 1,2 казеїнових одиниць плазміногену/мл, 0,3 мм S_{2251} , 2 мкмоль/л FCB-2, 100 мкл/мл плазми, 0,05 моль/л фосфатний буфер, рН 7,35, що містить 0,15% твін 80.

Результати та їх обговорення

Розроблений нами комплексний підхід дослідження системи гемостазу вагітних дозволив виявити активацію прокоагулянтної ланки системи гемостазу з ознаками хронічного синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання (ДВЗ-синдрому), що підтверджуються високою концентрацією фібриногену ($4,56 \text{ г/л} \pm 0,12 \text{ г/л}$), підвищенням активності фактора X ($119 \% \pm 1,84 \%$), скороченням часу зсідання в тесті – АЧТЧ і накопиченням маркерів тромбемії – розчинного фібрину ($0,07 \text{ г/л} \pm 0,004 \text{ г/л}$), аномальних форм протромбіну ($0,86 \text{ мкг/мл} \pm 0,22 \text{ мкг/мл}$) і продуктів деградації фібриногену/фібрину ($22,3 \text{ мкг/мл} \pm 1,73 \text{ мкг/мл}$) [5].

Порушення системи гемостазу під час вагітності поглиблюються у разі кесаревого розтину. За даними багатьох авторів абдомінальне родорозродження збільшує ризик виникнення тромботичних ускладнень у 10 – 15 разів, порівнянно з консервативними пологамі. Показано, що активація системи зсідання крові у вагітних жінок напередодні кесаревого розтину має тісний взаємозв'язок зі зниженням антитромботичного резерву: середня активність АТ-III становить $72,5 \% \pm 2,55 \%$, протеїну С - $67,4 \% \pm 2,41 \%$, що повинно бути підставою для проведення тромбопрофілактики (Рис. 1,2).

Операція кесаревого розтину збільшує наявні порушення в системі гемостазу. Посилюється патологічна активація системи зсідання крові, збільшується вміст маркерів тромбемії: концентрація розчинного фібрину становить – $0,09 \text{ г/л} \pm 0,007 \text{ г/л}$. Після операції відзначається тенден-

ція до збільшення антитромботичного потенціалу, переважно за рахунок АТ-III, однак середні значення АТ-III ($87,45 \% \pm 3,63 \%$) і протеїну С ($58,25 \% \pm 4,63 \%$) вирогідно нижчі від норми.

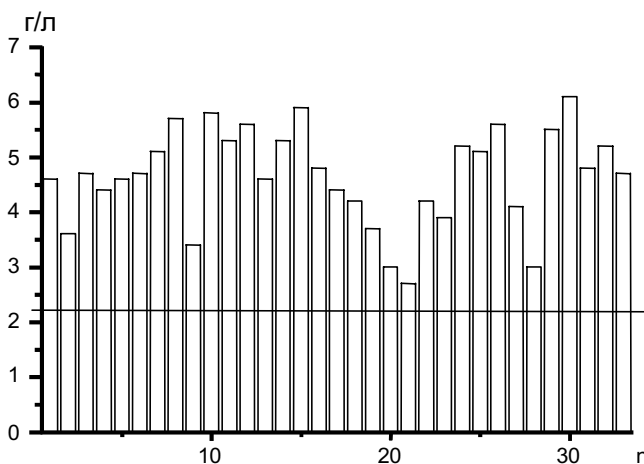


Рис.1. Вміст фібриногену в плазмі крові вагітних жінок (n - вибірка пацієнтів).

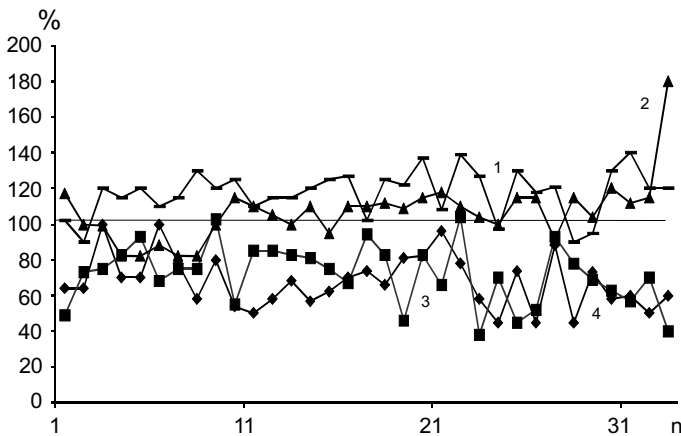


Рис.2. Вміст окремих показників системи зсідання у вагітних жінок (n – вибірка пацієнтів)
 1 - фактор X,
 2 - протромбіновий індекс,
 3 - антитромбін III,
 4 - протеїн С.

Для аналізу фібринолітичної системи нами було досліджено вміст плазміногену, α_2 -АП, α_2 -М, α_1 -АТ та активності t-РА і PAI-1 до і після операції кесаревого розтину (рис. 3).

Аналіз компонентів системи фібринолізу показав, що вміст плазміногену в межах норми, у той час як вміст α_2 -АП знижений до 70 % як до, так і після операції. При нормальному рівні плазміногену, зниження вмісту α_2 -АП у даній групі хворих, ймовірно свідчить про те, що відбувається його використання, на інактивацію таких ферментів, як: урокіназа, калікреїн, тромбін, тканинний активатор плазміногену, фактори Ха і XIa [19-21].

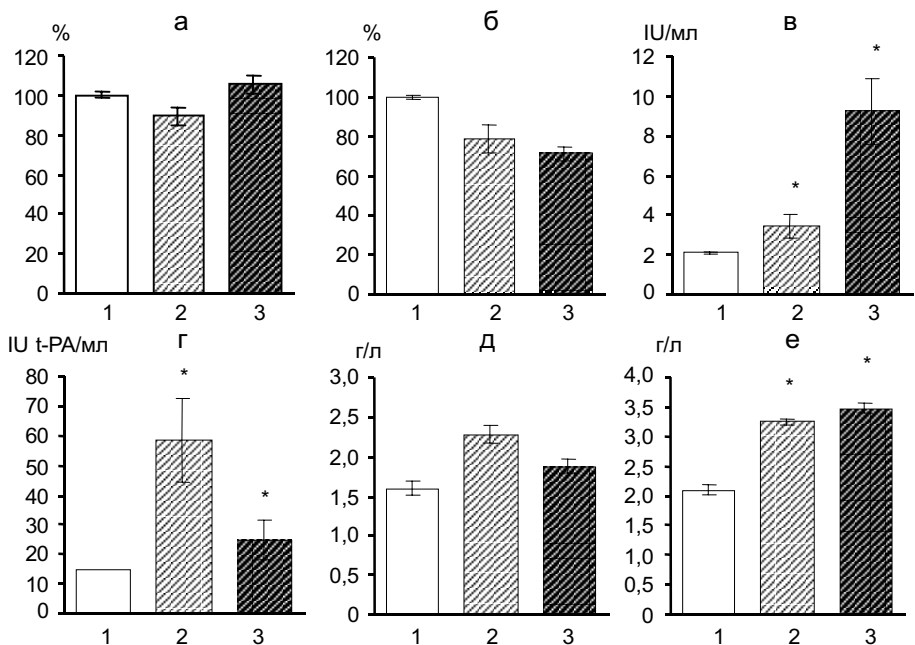


Рис. 3. Показники системи фібринолізу: а - плазміноген, б - α_2 -антиплазмін, в - тканинний активатор плазміногену, г - інгібітор тканинного активатора плазміногену I типу, д - α_2 -макроглобулін, е - α_1 -антитрипсин до (2) та після (3) операції кесаревого розтину, (1) - контроль. * P < 0,001.

Відомо, що активність t-PA зі збільшенням терміну вагітності поступово зменшується, а через 48 год після пологів повертається до норми [10, 18, 22, 24, 29]. Що стосується рівня антигену t-PA, то він лінійно підвищується з терміном вагітності і стрімко падає після пологів [10, 22]. Коливання рівня антигену та активності PAI-1 подібні до коливань вмісту антигену t-PA [18, 24, 29, 32].

Після кесаревого розтину спостерігається збільшення активності t-PA (див. рисунок). Остання характеризує загальну активність активатора в плазмі і є потенціалом фібринолітичної системи. До кесарева розтину активність PAI-1 значно збільшена і знижується після операції.

Нами виявлено тісний взаємозв'язок таких показників гемостазу, як активність t-PA, вміст розчинного фібрину і протромбінового індексу. Так, до операції коефіцієнт кореляції t-PA і розчинного фібрину становить 0,8 ($P < 0,05$), а протромбінового індексу – 0,7 ($P < 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що збільшення потенціалу прокоагулянтної ланки системи гемостазу призводить до компенсаторного підвищення потенціалу фібринолітичної системи.

Активність PAI-1 тісно взаємопов'язана з активністю t-PA (0,8; $P < 0,05$), вмістом продуктів розщеплення фібриногену (0,84; $P < 0,05$) і протеїну С (– 0,5; $P < 0,05$). Негативний взаємозв'язок свідчить про те, що активований протеїн С знижує інгібуючий потенціал PAI-1 внаслідок утворення комплексу з ним, що сприяє збільшенню активності t-PA і як результат – збільшення потенціалу фібринолітичної системи [13, 25].

Згідно з нашими результатами вміст α_2 -М підвищений у вагітних жінок до операції $2,28 \text{ г/л} \pm 0,11 \text{ г/л}$, після операції – $1,87 \text{ г/л} \pm 0,09 \text{ г/л}$, при нормі – $1,6 \text{ г/л} \pm 0,08 \text{ г/л}$.

Виділяють дві основні функції α_2 -М: перша пов'язана з швидким і своєчасним видаленням з кровотоку комплексів інгібіторів (антитромбіну III, α_2 -АП, С1-естерази) з відповідними ферментами; друга функція – при низькій концентрації вищезгаданих інгібіторів, α_2 -М виконує функцію нейтралізації активованих протеїназ крові [3, 28].

Відомо, що α_2 -М складає близько 25 – 30 % усього антитромбінового потенціалу плазми [17]. Збільшення вмісту α_2 -М, що спостерігається в групі пацієнтів, свідчить про підвищення функціонального навантаження на цей білок у результаті дисбалансу в системі гемостазу.

α_1 -АТ називають одним з основних сироваткових інгібіторів протеїназ, який у сукупності з α_1 -антихімотрипсином і С1-інгібітором забезпечує близько 5 – 7 % антитромбінової активності плазми [1, 9, 16, 20, 27]. Крім того, α_1 АТ є білком гострої фази запалення [4]. Отримані нами результати збігаються з даними літератури і свідчать про адаптаційні зміни в системі гемостазу при вагітності [2, 3, 16, 20].

Слід зазначити, що напередодні розродження в системі гемостазу спостерігається тромбофілічний стан, що характеризується підвищенням вмісту фібриногену, патологічною активацією зсідання крові, яка призводить до накопичення маркерів тромбінемії і виснаження антитромбінового резерву.

У разі активації прокоагулянтної ланки системи гемостазу і пригнічення фібринолітичного потенціалу виникає загроза тромботичних ускладнень.

У такій ситуації аналіз показників фібринолітичної системи відіграє не менш важливу роль в оцінці стану гемостазу, порівнянно з аналізом показників системи зсідання крові. Комплексний підхід до оцінки стану фібринолітичної ланки системи гемостазу дуже важливий при постановці діагнозу і перевірки ефективності лікування, а такий показник, як активність тканинного активатора плазміногену може бути використаний як ранній прогностичний показник (у сукупності з маркерами ДВЗ-синдрому) стану системи гемостазу пацієнтів.

A.N. Savchuk, M.Sh. Gamisonia, A.I. Kizim, T.N. Platonova

ESTIMATION OF SOME FIBRINOLYTIC CHAIN HAEMOSTASIS SYSTEM PARAMETERS PROGNOSTIC IMPORTANCE AT ABDOMINAL DELIVERY

Complex analysis of pregnant women haemostasis system before and after caesarian section allowed find the coagulation system activation. It was shown the thrombic markers accumulation, AT III and protein C levels decrease. Also change of ratio fibrinolytic system components was exposed. Definition of t-PA and PAI-1 activities can be used as prognostic markers of the fibrinolytic chain haemostasis system disfunction.

A. V. Palladins Institute of biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Биохимические компоненты свертывания крови. // Под ред. Макарова В.А. - Свердловск, Изд-во Урал. Ун-та, 1990. - 210 с.
2. *Веремешко К.Н., Кизим А.И., Терзов А.И. и др.* Влияние ингибиторов плазмы крови на активность сериновых и цистеиновых протеиназ // Укр.биохим.журн. - 1998. - 70, № 6. - С.35-42.
3. *Веремешко К.М.* Генетичний поліморфізм альфа-1-інгібітора протеїназ і його діагностичне значення // Лаб. Діагностика. - 1997. - №1. - С.5-10.
4. *Веремешко К.М., Кизим О. И., Досенко О.И.* А₂-макроглобулін: структура, фізіологічна роль і клінічне значення // Там же - 2000. - №2. - С.3-8.
5. *Голота В.Я., Гамісонія М.Ш., Платонова Т.М., Макогоненко Є.М.* Діагностика претромботичного стану за допомогою сучасних коагулологічних тестів в акушерській практиці // Там же - 1998. - №3. - С.15-18.
6. *Платонова Т.Н., Савчук А.Н., Ровинская И.Н. и др.* Определение уровня тканевого активатора плазминогена и растворимого фибрина в плазмах больных при различных патологиях // Там же - 2000. - N 2. - С.15-17.
7. Сучасні методи лабораторної діагностики внутрішньосудинного мікрозсідання крові (методичні рекомендації). К., - 1994. - 23 с.
8. *Bellart J., Gilabert R., Fontcuberta J. Et al.* Coagulation and fibrinolytic parameters in normal pregnancy and in pregnancy complicated by intrauterine growth retardation / / Amer. J. Perinatol. - 1998. - Feb; 15(2). - P.81-85.
9. *Catz EG., Speir WA Jr.* Alpha 1-Antitrypsin deficiency // South. Med.J. - 1984. - Apr; 77(4). - P.479-483.
10. *Cerneca F., Ricci G., Simeone R. et al.* Coagulation and fibrinolysis changes in normal pregnancy. Increased levels of procoagulants and reduced levels of inhibitors during pregnancy induce a hypercoagulable state, combined with a reactive fibrinolysis // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. - 1997. - May; 73(1). - P.31-36.

11. Chandler W., Stratton J. Laboratory evaluation of fibrinolysis in patients with a history of myocardial infarction // Amer. J. Clin. Pathol. – 1994. – 102, N2. – P.248-252.
12. Clark P., Greer IA., Walker ID. Interaction of the protein C/protein S anticoagulant system, the endothelium and pregnancy // Blood Rev. – 1999. – Sep; 13(3). – P. 127-146.
13. de Fouw NJ., de Jong YF., Haverkate F., Bertina RM. Activated protein C increases fibrin clot lysis by neutralization of plasminogen activator inhibitor – no evidence for a cofactor role of protein S // Thromb. Haemost. – 1988. – Oct; 60(2). – P.328-333.
14. Eriksson E., Ranby M., Gyzander E. et al. Determination of plasminogen activator inhibitor in plasma using t-PA and a chromogenic single-point poly-D-lysine stimulated assay // Thromb. Res. – 1988. – 50(3). – P.91-101.
15. Estelles A., Gilabert J., Aznar J. Et al. Changes in the plasma levels of type 1 and type 2 plasminogen activator inhibitors in normal pregnancy and in patients with severe preeclampsia // Blood. – 1989. – Sep;74(4). – P.1332-1338.
16. Espana F., Gilabert J., Aznar J. Et al. Complexes of activated protein C with alpha 1-antitrypsin in normal pregnancy and in severe preeclampsia // Amer. J. Obstet. Gynecol. – 1991. – May; 164(5 Pt 1). – P.1310-1316.
17. Fisher A., Tapon-Bretandiere I., Bros A., Josso F. Respective roles of ATIII and α_2 -macroglobulin in thrombin inactivation // Thromb. And Haemost. – 1981. – 45, №1. – P.51-54.
18. Ishii A., Yamada S., Yamada R., Hamada H. T-PA activity in peripheral blood obtained from pregnant women // J. Perinat. Med. – 1994. – 22(2). – P.113-117.
19. Korninger C. and Cllen D. Neutralization of human extrinsic (tissue-type)plasminogen activator in human plasma: no evidence for a specific inhibitor // Thromb. Haemost. – 1981. – 46. – P. 662 – 665.
20. Kuller JA., Katz VL., McCoy MC., Bristow CL. Alpha 1-antitrypsin deficiency and pregnancy // Amer. J. Perinatol. – 1995. – Sep; 12(5). – P.303-305.
21. Lijnen H.R., Collen D. Alpha-2-anti plasmin In: PJD Publications Limited Box 966, Westbury. NY 11590, 1986. – P.225-283.
22. Nakashima A., Kobayashi T., Terao T. Fibrinolysis during normal pregnancy and preeclampsia relationships between plasma levels of plasminogen activators and inhibitors // Gynecol. Obstet. Invest. – 1996. – 42(2). – P.95-101.
23. Pinto S., Abbate R., Rostagno C. et al. Increased thrombin generation in normal pregnancy // Acta Eur. Fertil. – 1988. – Sep.-Oct; 19(5). – P.263-267
24. Reverdiau-Moalic P., Gruel Y., Delahousse B. et al. Comparative study of the fibrinolytic system in human fetuses and in pregnant women // Thromb. Res. – 1991. – Mar;61(5-6). – P.489-499.
25. Sakata Y., Loskutoff DJ., Gladson CL. et al. Mechanism of protein C- dependent clot lysis: role of plasminogen activator inhibitor // Blood. – 1986. – 68, №6. – P.12-18.
26. Stegnar M., Zore A., Novak-Antolic Z. et al. Tissue-type plasminogen activator after venous occlusion in pregnancy and puerperium // Thromb. Haemost. – 1993. – Sep.1; 70(3). – P.486-490.
27. Teisner B., Davey MW., Grudzinskas JG. Circulating antithrombins in pregnancy // Brit. J. Obstet. Gynaecol. – 1982. – Jan; 89(1). – P.62-64.
28. Travis J., Salvessen G. Control of coagulation and fibrinolysis by plasma proteinase inhibitors // Behring. Inst. Mitt. – 1983. – Aug; (73). – P.56-65.
29. Van Wershe JW., Ubachs JM. Blood coagulation and fibrinilysis during normal pregnancy // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1991. – Jan; 29(1). – P.45-50.
30. Walker JE., Campbell DM., Ogston D. Blood levels of proteinase inhibitors in pregnancy // Brit. J. Obstet. Gynaecol. – 1982. – Mar; 89(3). – P.208-210.
31. Wright JG., Cooper P., Astedt B. et al. Fibrinolysis during normal human pregnancy: complex inter-relationships between plasma levels of tissue plasminogen activator and inhibitors and the euglobulin clot lysis time // Brit. J. Haematol. - 1988. - Jun; 69(2). – P.253-258.
32. Yuasa S., Ishizawa M., Yuki Y. et al. Coagulation and fibrinolysis in pregnancy // Rinsho. Byori. – 1992. – 40(12). – P.1287-1291.