

Следовательно, определение активности 5'-нуклеотидазы является объективным критерием оценки повреждения наружных клеточных мембран, которое может рассматриваться как фактор риска тромбообразования и прогрессирования ИБС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алимова М. М. Лаб. дело, 1964, 6. — 2. Зубаиров Д. М., Щербатенко-Лушникова Л. А., Андрушко И. А., Габитов С. З. и др. В кн.: Тезисы докл. международн. конф. «Противотромботическая терапия в клинической практике». М., 1979. — 3. Климов А. Н. Пат. физиол., 1972, 5. — 4. Климов А. Н., Ганелина И. Е. Фенотипирование гиперлиппротеидемий (методические рекомендации). Л., 1975. — 5. Перова Н. В., Чернышева П. П., Щербакова И. А., Полесский В. А. Кардиология, 1979, 12. — 6. Титов В. Н., Бренер Е. Д., Халтаев Н. Г., Задоя А. А., Творогова М. Г. Лаб. дело, 1979, 1. — 7. Халтаев Н. Г., Мазур Н. А., Титов В. Н., Халтаева Е. Д. и др. Тер. арх., 1980, 1. — 8. Campbell D. M. Biochim. J., 1962, 82, 2. — 9. Miller N. B. Biochim. Biophys. Acta, 1978, 529, 131. — 10. Sackett E. J. Biol. Chem., 1925, 64, 203. — 11. Stein G., Glangenud M. C., Fainaru M. a. o. Biochim. Biophys. Acta, 1975, 380, 106.

Поступила 3 октября 1980 г.

УДК 616.127—005.8—07:616.151

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПАРАКОАГУЛЯЦИОННЫХ ПРОБ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

С. З. Габитов, Р. И. Литвинов

Кафедра терапии № 1 (зав.—проф. Л. А. Щербатенко-Лушникова) Казанского ГИДУВа им. В. И. Ленина и кафедра биохимии (зав.—проф. Д. М. Зубаиров) Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им. С. В. Курашова

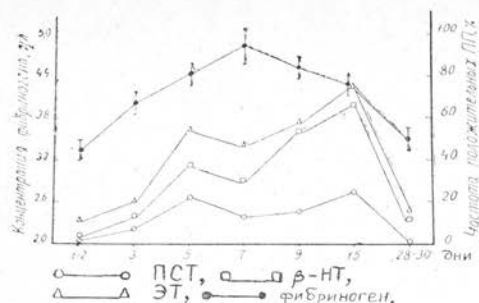
Реферат. Этаноловый, β -нафтоловый (проба на «фибриноген Б») и протаминсульфатный тесты, поставленные одновременно в плазме крови больных острым инфарктом миокарда, проявили высокую степень корреляции между собой, однако по чувствительности они различались: этаноловый $>$ β -нафтоловый $>$ протаминсульфатный. Гепарин не искажал результатов этанолового и β -нафтолового тестов, тогда как показатели протаминсульфатного теста сильно зависели от присутствия гепарина. Образование зернистого осадка не является положительным результатом протаминсульфатного теста и указывает на гипергепаринемию. Этаноловый тест по совокупности данных может быть рекомендован для контроля за состоянием системы гемокоагуляции при остром инфаркте миокарда, включая период гепаринотерапии.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, паракоагуляционные пробы, гепарин. 1 иллюстрация, 3 таблицы. Библиография: 21 название.

К паракоагуляционным пробам (ПП) относятся реакции осаждения растворимых комплексов фибрин-мономера (РКФМ) из плазмы крови при добавлении химических веществ или при охлаждении. Поскольку РКФМ являются продуктом взаимодействия тромбина и фибриногена, их появление в крови свидетельствует о внутрисосудистой активации системы свертывания крови и дает основание использовать ПП в лабораторной диагностике тромбинемии. Наиболее распространенными являются тесты: этаноловый (ЭТ), β -нафтоловый (β -НТ), или тест на «фибриноген Б», и протаминсульфатный (ПСТ), специфичность которых по отношению к РКФМ доказана в ряде исследований [3, 11, 13].

Известно, что изменения гемокоагуляции при остром инфаркте миокарда протекают по типу гиперкоагулемии вплоть до развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [4]. Поэтому в комплексном лабораторном обследовании больных инфарктом миокарда большую роль играют методы, способные обнаруживать в плазме крови РКФМ [1, 6], причем особое значение имеют реакции паракоагуляции ввиду простоты и быстроты их выполнения и большой информативности [17]. В связи с этим представляется важным провести сравнительное изучение различных ПП при остром инфаркте миокарда с целью выяснения их относительной клинической ценности.

ЭТ [7], β -НТ [9] и ПСТ [8] ставили одновременно в плазме крови 24 больных острым инфарктом миокарда на 1—2, 3, 5, 7, 9, 15 и 28—30-й дни болезни. Параллельно определяли концентрацию фибриногена в плазме методом Р. А. Рутберг



Частота положительных ПП и концентрация фибриногена в плазме крови в динамике острого инфаркта миокарда.

болезни частота положительных ЭТ и β-НТ уменьшается до 13%, а ПСТ — до 0%. Появление положительных ПП и возрастание их частоты отражают состояние гиперкоагулемии, которое развивается у больных инфарктом миокарда в ответ на некроз сердечной мышцы и поступление в кровоток тканевого тромбопластина из зоны инфаркта [2]. Показателем этого процесса является также умеренная гиперфибриногемия, которая достигает максимума — $4,8 \pm 0,5$ г/л — на 7-й день болезни.

Важно отметить, что результаты различных ПП хорошо коррелируют между собой (см. табл. 1). Наиболее тесная взаимосвязь существует между ЭТ и β-НТ, которые сходны по специфичности и механизму осаждения РКФМ. Оба теста способны обнаруживать в плазме комплексы фибрин-мономер — фибриноген и не могут выявить присутствия ранних продуктов фибринолиза [3, 15], а реактивы, используемые в обеих реакциях (этанол, β-нафтол), по механизму осаждения РКФМ являются денатурирующими агентами. Этим объясняется высокая степень корреляции между результатами ЭТ и β-НТ, которые прежде всего отражают повышение уровня РКФМ в крови больных инфарктом миокарда.

В отличие от этих проб, ПСТ способен обнаруживать, наряду с РКФМ, ранние продукты деградации фибрина (ПДФ), которые осаждаются не путем денатурации, а в результате комплексообразования с протаминсульфатом [16]. С этим связана более низкая степень корреляции между ПСТ и двумя другими ПП, поскольку на результаты ПСТ, помимо уровня РКФМ, влияет повышение концентрации ПДФ в крови, характерное для инфаркта миокарда [6].

Наряду со специфичностью по отношению к РКФМ и ПДФ, клиническая ценность ПП определяется их относительной чувствительностью. Так как все ПП ставились одновременно в одинаковых образцах плазмы, число положительных результатов можно считать прямо пропорциональным чувствительности тестов и использовать его для сравнительной оценки этого параметра. Результаты сравнения чувствительности различных ПП представлены в табл. 2.

Согласно полученным данным, ПП располагаются по чувствительности в следующем порядке: ЭТ > β-НТ > ПСТ. Достоверность этого вывода снижается тем, что ПП, по данным литературы, подвержены неспецифическим влияниям. Так, ЭТ может быть ложноположительным в присутствии неидентифицированного низкомолекулярного белка [14] и при гиперфибриногемии [21] или, наоборот, ложноотрицательным при низкой концентрации фибриногена [20] и в присутствии поздних ПДФ

Таблица 1

Корреляционный анализ результатов паракоагуляционных проб в динамике острого инфаркта миокарда

Анализируемые сочетания тестов	Значения коэффициента корреляции (r)
ЭТ и β-НТ	$0,970 \pm 0,022$
ЭТ и ПСТ	$0,960 \pm 0,029$
β-НТ и ПСТ	$0,902 \pm 0,070$

Таблица 2

Чувствительность паракоагуляционных проб

Изучаемые показатели	ЭТ	β-НТ	ПСТ
Число положительных результатов	62 (44%)	48 (34%)	19 (14%)
Число отрицательных результатов	79	93	122
Всего	141	141	141

[19]. Тем не менее наш опыт одновременной постановки ПП позволяет заключить, что положительный ЭТ в динамике острого инфаркта миокарда, как правило, появляется раньше, а исчезает позже, чем другие положительные ПП, и, следовательно, является наиболее чувствительным индикатором тромбинемии. При этом положительные результаты ЭТ обычно коррелируют с другими лабораторными и клиническими признаками внутрисосудистой активации системы свертывания крови. Все сказанное позволяет утверждать, что ЭТ является наиболее чувствительным среди исследованных ПП, в частности, по отношению к производным фибриногена, образующимся при остром инфаркте миокарда.

Данные литературы о ПСТ крайне противоречивы, что связано, во-первых, с неодинаковыми свойствами различных препаратов протаминсульфата [12] и, во-вторых, с отсутствием единых критериев оценки ПСТ [10]. Наш опыт постановки ПСТ у больных и здоровых людей, а также модельные исследования *in vitro* позволяют утверждать, что положительным результатом ПСТ является образование только крупных хлопьев или геля после добавления протаминсульфата к плазме. Как будет показано ниже, появление зернистого осадка не является положительным результатом ПСТ, по крайней мере при использовании протаминсульфата фирмы Weddel Pharmaceutical (Англия). С учетом этих необходимых и существенных оговорок ПСТ, по нашим данным, является наименее чувствительным из изученных ПП. Такой вывод меняет прежнее представление о высокой чувствительности ПСТ. Это объясняется прежде всего тем, что выпадение зернистого осадка в соответствии с мнением большинства исследователей ранее интерпретировалось как положительный результат ПСТ, что, главным образом, обусловило высокие значения показателей чувствительности ПСТ. В свете новых данных, излагаемых ниже, образование зернистого осадка нельзя считать положительным результатом ПСТ, свидетельствующим о присутствии РКФМ и (или) ЦДФ.

Ввиду того, что больные инфарктом миокарда в остром периоде, как правило, получают гепарин, практически важно выяснить, влияет ли гепарин на результаты ПП. С этой целью проведены эксперименты *in vitro*, в которых изучена способность гепарина изменять результаты ПП.

В серии опытов к объединенной плазме крови человека, искусственно насыщенной РКФМ¹, добавляли разное количество гепарина (Спофа, ЧССР), после чего ставили в ней параллельно три изучаемых ПП. Контролем служила исходная плазма с отрицательными ПП, к которой добавляли гепарин и которую затем исследовали с помощью этанола, β -нафтола и протаминсульфата. Один из опытов иллюстрирует таблица 3.

Из таблицы 3 видно, что гепарин в концентрации 2—40 ЕД/мл не препятствует осаждению РКФМ из плазмы под действием этанола и β -нафтола. Кроме того, в отсутствие РКФМ гепарин не индуцирует ложноположительных результатов ЭТ и β -НТ. В то же время гепарин искажает показания ПСТ из-за образования нерастворимого соединения с протаминсульфатом, выпадающего в виде зернистого осадка. Это, во-первых, затрудняет интерпретацию и существенно снижает информативность ПСТ при гепаринотерапии и, во-вторых, показывает, что зернистость вообще нельзя считать положительным результатом ПСТ, указывающим на присутствие РКФМ. Образование зернистого осадка скорее всего отражает состояние экзо- или эндогенной гипергепаринемии. Как показали опыты в чистой системе, то количество протаминсульфата, которое присутствует в плазме при постановке ПСТ (0,2%), образует видимый зернистый осадок при концентрации гепарина ≥ 6 ЕД/мл. Если учесть, что эта величина соответствует нормальному содержанию гепарина или гепариноподобных веществ в плазме (5—7 ЕД/мл [18]), не удивительно, что при постановке ПСТ в плазме крови здоровых людей нередко образуется зернистый осадок, отражающий комплексобразование протаминсульфата с гепарином и гепариноподобными веществами.

Отсутствие искажающего влияния гепарина на результаты ЭТ и β -НТ наводит на мысль о возможности применения этих проб для лабораторного контроля за адекватностью гепаринотерапии. Поскольку гепарин в достаточной дозе предупреждает образование РКФМ, исчезновение положительных результатов ЭТ и β -НТ в процессе лечения гепарином будет свидетельствовать о подавлении внутрисосудистой активации свертывания крови и о ликвидации тромбинемии. Разумеется, лабораторный контроль

¹ Плазму, насыщенную РКФМ, получали добавлением раствора тромбина до конечной концентрации 0,025—0,050 ед./мл. Когда начиналось образование фибрина, активность тромбина подавляли трасилолом (Bayer, ФРГ) в концентрации 10 КЕ ед./мл, а единичные нити фибрина отделяли центрифугированием.

Влияние гепарина на результаты паракоагуляционных проб

Изучаемые показатели	Концентрация экзогенного гепарина, ЕД/мл							
	0	2	4	6	8	10	20	40
Результаты ЭТ в плазме, насыщенной РКФМ	г	г	г	г	г	г	г	г
Результаты ЭТ в контрольной плазме	о	о	о	о	о	о	о	о
Результаты β -НТ в плазме, насыщенной РКФМ	г	г	г	г	г	г	г	г
Результаты β -НТ в контрольной плазме	о	о	о	о	о	о	о	о
Результаты ПСТ в плазме, насыщенной РКФМ	г	х	х	х+з	з+х	+++	++++	++++
Результаты ПСТ в контрольной плазме	з	з	з	з	з	з	з	з
	+	+	+	++	+++	++++	++++	++++

Примечание: г — гель, х — хлопья, з — зернистость, о — отсутствие видимых изменений.

за гепаринотерапией не должен ограничиваться применением этих тестов, так как исчезновение положительных ПП не исключает возможности передозировки гепарина, которая чревата геморрагическими осложнениями.

Таким образом, наиболее информативным при остром инфаркте миокарда следует считать ЭТ, который коррелирует со всеми другими ПП, но при этом является самым чувствительным из них и не подвержен искажающему влиянию гепарина. Рекомендуем этот метод для лабораторного контроля за состоянием системы гемокоагуляции при инфаркте миокарда включая период лечебного применения гепарина, приводим методику постановки ЭТ в модификации Брин и Таллис (1968): к 0,45 мл цитратной плазмы приливают 0,05 мл 0,1 н. едкого натра, а затем — 0,1 мл 50 об.% этанола. Пробирку встряхивают и оставляют стоять при комнатной температуре на 5 мин. Положительный результат — образование геля или хлопьев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грицюк А. И., Шигельский В. И. Тер. арх., 1979, 1. — 2. Зубаиров Д. М., Щербатенко-Лушникова Л. А., Андрушко И. А. и др. В кн.: Материалы международной конф. «Противотромботическая терапия в клинической практике». Тез. докл., М., 1979. — 3. Зубаиров Д. М., Литвинов Р. И. Биохимия, 1980, 6. — 4. Люсов В. А., Белоусов Ю. Б., Бокарев И. Н. Лечение тромбозов и геморрагий в клинике внутренних болезней. М., Медицина, 1976. — 5. Рутберг Р. А. Лаб. дело, 1961, 5. — 6. Anaya-Calindo R., Shattil S. J., Shelburne J. C., Coloman R. W. Thrombos. Res., 1976, 9, 2. — 7. Breen F. A., Jr., Tullis J. L. Ann. Intern. Med., 1968, 69, 6. — 8. Conard J., Bogaty-Yver J., Samama M. Nouv. Presse med., 1974, 3, 44. — 9. Cummine H., Lyons R. N. Brit. J. Surg., 1948, 35, 140. — 10. Fung C. H. K., Woodson B. Amer. J. Clin. Pathol., 1976, 65, 5. — 11. Godal H. C., Brosstad F., Kierulf P. Bibl. haematol., 1978, 44. — 12. Gurewicz V. Thrombos. Diathes. haemorrh., 1973, 29, 733. — 13. Gurewicz V., Lipinski B. Am. J. Clin. Pathol., 1976, 65, 3. — 14. Gurewicz V., Lipinski B., Lipinska I. Thrombos. Res., 1973, 2, 539. — 15. Kontinen Y. P., Kempainen L., Turunen O. Thrombos. Diathes. haemorrh., 1972, 28, 3. — 16. Latallo Z. S. Ibid., 1975, 34, 3. — 17. Nowak A., Lipinski B., Drzewiecki J. Brit. Heart J., 1972, 34, 593. — 18. Pieptea R. M. Sang, 1957, 28, 91. — 19. Sas G., Blasko G., Jákó J., Banhegyi D. Haematologia, 1973, 7, 3-4. — 20. Slaastad R. A., Godal H. C., Kierulf P. Scand. J. Haematol., 1975, 15, 2. — 21. Vorlova Z., Přibylková J. Vnitřní lék., 1976, 22, 10.

Поступила 20 мая 1980 г.