

УДК 616.611-002-092-07:616.151.5

Г. О. Білицька, Л. П. Мусієнко

УЧАСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ У ПРОЦЕСАХ ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ ТА ФІБРИНОЛІЗУ У ЗДОРОВИХ ОСІБ

Численні дослідження коагулюючих властивостей крові при різних патологічних станах, виконані в умовах клініки протягом останніх 15 років, в основному були присвячені визначенню активності різних факторів зсідання у плазмі і меншою мірою — активності тромбоцитарних факторів. Роль еритроцитів у процесі гемокоагуляції досліджували, переважно, в умовах експерименту [6, 7, 8, 26—28] або при патологічних станах, що супроводжувалися внутрісудинним гемолізом [10, 21]. Лише деякі праці присвячені дослідженню коагулюючих властивостей еритроцитів при різних захворюваннях [13, 16]. Водночас експериментальні дані, одержані протягом останніх 29 років переконливо довели наявність в еритроцитах своєрідного фактора, що впливає на тромбопластиноутворення (еритроцитин за термінологією Квіка [26], еритропластин за термінологією Гартнера [22]), фактора, якому властива антигепаринова активність, речовин, подібних до пластиночних факторів I і II, факторів протромбінового комплексу, субстанцій, що впливають на ретракцію, еластичність та щільність згустка, антитромбопластинів, антипротромбінів, активаторів та інгібіторів фібринолізу [2, 11, 23, 28]. Активність цих еритроцитарних факторів майже не вивчена при багатьох патологічних станах, при яких локальне внутрісудинне зсідання має важливе патогенетичне значення. Для дослідження ролі еритроцитів у процесі коагуляції при патологічних станах необхідно, перш за все, мати чітке уявлення про участь еритроцитів у гемокоагуляції за фізіологічних умов.

Методика досліджень

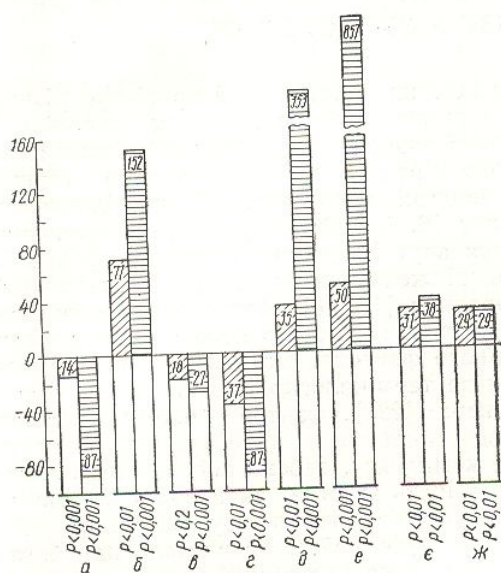
Ми досліджували участь еритроцитів у процесах зсідання крові та фібринолізу у здорових осіб. При цьому ми спеціально використовували комплекс тестів, які найчастіше застосовують в коагулологічних лабораторіях для вивчення коагуляції та фібринолізу в плазмі. Тому одержані нами дані можуть бути орієнтиром при дослідженні коагулюючих властивостей еритроцитів при різних захворюваннях. Досліджували час рекальцифікації [24], споживання протромбіну [11], протромбіновий індекс [25], протромбіновий час та активність вільного гепарину [4], фібриназну активність [3], концентрацію фібриногену та активність фібринолізу [19]. Методом фібринових плівок [17] визначали активність плазміну, антиплазмінів, активаторів та інгібіторів активації плазміногену. Крім того, реєстрували електрокоагулограми на коагулографі Н-333 з обчисленням п'яти показників. Кожен показник визначали в плазмі з додаванням 0,1 мл 0,9% розчину хлориду натрію (контроль), та 0,1 мл цільного гемолізату еритроцитів, а також 0,1 мл гемолізату, розведеного 1:10 фізіологічним розчином хлористого натрію, оскільки в такому виді він, за даними Кузника, більш активний, ніж цільний. Для одержання гемолізату еритроцитів використали метод повторного заморожування та відтавання відмитих фізіологічним розчином еритроцитів.

Результати дослідження оброблені статистично.

Результати досліджень

Основні результати досліджень наведені на рисунку, який показує вплив цільного та розведеного 1 : 10 гемолізату на більшість досліджуваних нами показників гемокоагуляції. Для зручності зображення усі зрушення гемокоагуляції, викликані додаванням гемолізату наведені в процентах (за 100% прийнята середня арифметична величина даного показника в плазмі).

Як видно з рисунка, час рекальцифікації плазми достовірно скоротився при додаванні як цільного, так і розведеного гемолізату, причому зрушення у бік гіперкоагуляції під впливом цільного гемолізату було більш виразне ($p=0,05$).



Вплив цільного (горизонтально заштриховані стовпці) та розведеного 1 : 10 (навскісно заштриховані стовпці) гемолізату на показники гемокоагуляції.

а — час рекальцифікації; б — споживання протромбіну; в — тромбіновий час; г — активність вільного гепарину; д — концентрація фібриногену; е — активність XIII фактора; показники електрокоагулограми; ж — початок зсідання; з — закінчення зсідання. p — достовірність відмінності з даним показником у плазмі (середні значення). По вертикалі: верхня частина — підвищення показника гемокоагуляції у процентах; нижня частина — зниження показника. По горизонталі — середня величина показника в плазмі.

Реєструючи процес коагуляції на електрокардіографі, ми впевнились, що і цільний, і розведений гемолізат достовірно скорочують як початок, так і закінчення зсідання (див. рисунок). Відмінності у впливі цільного і розведеного гемолізату в цьому випадку статистично не виявлено. Беручи до уваги дані електрокоагулограми, гемолізовані еритроцити спричиняють різноспрямований вплив на тривалість зсідання, швидкість зсідання протягом першої та другої хвилин.

Цільний і розведений гемолізат значно підвищують споживання протромбіну ($p<0,001$ та $p<0,01$ відповідно). В середньому вплив цільного гемолізату більш виразний, але достовірності різниці не вдалось довести статистично ($p>0,05$). Цікаво, що у 5 з 15 осіб, у яких досліджували паралельно цільний і розведений гемолізат, вплив розведеного переважав або був таким як і вплив цільного.

Тромбіновий час плазми при додаванні цільного гемолізату скорочувався статистично достовірно ($p<0,001$), а під впливом розведеного гемолізату — недостовірно ($p>0,2$). Відмінність у впливі цільного та розведеного гемолізату доведена ($p<0,05$).

Активність вільного гепарину знижувалась при додаванні до плазми розведеного та цільного гемолізату (див. рисунок). При цьому вплив останнього набагато виразніший ($p<0,001$). У 9 з 23 осіб, обстежених при наявності цільного гемолізату, активність вільного гепарину знижувалась до 0.

Протромбіновий індекс під впливом розведеного гемолізату знизився в середньому на $8\pm 1,4\%$. ($p<0,05$). Лише у одного з 25 обсліду-

ваних ми спостерігали під час додавання цільного гемолізату у 15 протромбінових двох — залишився без змісу Квіка у даному випадку.

При наявності розведеного концентрація фібриногену у 10 разів менше цільного гемолізату на а, що розведений 1 : 10 гемолізат на $50\pm 6,5\%$, то цілністю відмінності $p<0,001$.

При досліджуванні за Бідвела і цільний, і розведений фібриноліз, проте цей вплив ($p<0,2$ та $p<0,1$ відносно фібринолізу на фібринових плівках) у 8 з 17 осіб, викликало підвищення рідкості статично не доведена внаслідок того, що характерно для низької інгібіторів активності обслідуваних не змінилась знизилась під впливом цільного гемолізату.

Для вирішення питання впливу еритроцитів на здорову людину впливає одну серію досліджень. В кількості введеного цільного порціонової кількості еритроцитів статично не доведена внаслідок того, що характерно для низької інгібіторів активності обслідуваних не змінилась знизилась під впливом цільного гемолізату.

Обговорення

Проведені дослідження на еритроцитах здорових осіб, вплив на коагуляцію.

Підвищення споживання протромбіну при додаванні до плазми протромбіновий час, тривалість зсідання, вплив цільного гемолізату у порівнянні з розведеним. Мабуть, вплив цільного гемолізату чіткіше проявляється при додаванні до плазми антитромбoplastичного фактора.

Прискорення тромбіногенного фактора підтверджується статистично достовірно при додаванні до плазми розведеного і цільного гемолізату. Основне значення у спостереженні за еритроцитами.

ваних ми спостерігали підвищення індексу Квіка на 8%. Ефект від додавання цільного гемолізату був різноспрямованим: з 27 обслідуваних у 15 протромбіновий індекс знизився, у п'яти — підвищився, у двох — залишився без змін. Отже, динаміка середніх показників індексу Квіка у даному випадку не відбиває справжнього характеру процесу.

При наявності розведеного і цільного гемолізату достовірно підвищується концентрація фібриногену (див. рисунок), але вплив цільного гемолізату у 10 разів сильніший ($p < 0,001$). Ще виразніший вплив цільного гемолізату на активність фібринстабілізуючого фактора. Якщо розведений 1 : 10 гемолізат викликав підвищення фібриназної активності на $50 \pm 6,5\%$, то цільний гемолізат — на $857 \pm 90,9\%$ з достовірністю відмінності $p < 0,001$.

При досліджуванні загальної фібринолітичної активності методом Бідвела і цільний, і розведений гемолізат викликали деяке зниження фібринолізу, проте цей вплив в обох випадках статистично не доведений ($p < 0,2$ та $p < 0,1$ відповідно). При дослідженні активності фібринолізу на фібринових плівках додавання до плазми розведеного гемолізату у 8 з 17 осіб, а додавання цільного — у 19 з 29 осіб викликало підвищення рівня антиплазмінів (достовірність впливу статистично не доведена внаслідок великого розсіювання даних у кожному ряду, що характерно для методу Аструп — Мюллертсу [17]). Активність інгібіторів активації плазміногену у переважної більшості обслідуваних не змінилась, у окремих осіб незначно підвищилась або знизилась під впливом цільного чи розведеного гемолізату. В жодному випадку додавання до плазми гемолізованих еритроцитів не викликало підвищення активності плазміну та активаторів плазміногену.

Для вирішення питання, наскільки вміст еритроцитів в 1 мм^3 крові здорової людини впливає на коагуючу активність ми провели ще одну серію досліджень. В цій серії застосовані аналогічні методи, але кількість введенного цільного і розведеного 1 : 10 гемолізату, була пропорційна кількості еритроцитів в 1 мм^3 крові обслідуваного. Недостатній об'єм доповнювали 0,9% розчином хлориду натрію. Далі досліджували кореляцію між впливом даного об'єму гемолізату на відповідний показник і кількістю еритроцитів в 1 мм^3 крові. У здорових осіб (при коливанні кількості еритроцитів у мм^3 крові від 4.080.000 до 5.510.000) ми не виявили залежності між цими показниками.

Обговорення результатів досліджень

Проведені дослідження показали, що гемолізат, одержаний з еритроцитів здорових осіб, виразно впливає на різні етапи зсідання крові.

Підвищення споживання протромбіну під впливом гемолізату свідчить про прискорення тромбопластиноутворення та пояснюється впливом тромбопластичного фактора еритроцитів [7, 8, 22, 27]. Виразніший тромбопластичний вплив, виявлений у п'яти осіб при введенні розведеного 1 : 10 гемолізату у порівнянні з цільним, здається парадоксальним лише на перший погляд. Ми припускаємо, що у цих осіб у впливі цільного гемолізату чіткіше позначився вплив фізіологічного антикоагулянта антитромбопластичного фактора еритроцитів. При розведенні гемолізату вплив його зменшується і ефект від введення еритроцитину посилюється [8].

Прискорення тромбіноутворення при наявності еритроцитарних факторів підтверджується скороченням тромбінового часу при додаванні гемолізату (розведеного і особливо цільного). Згідно наших досліджень, основне значення у скороченні тромбінового часу мав вплив антигепаринового фактора еритроцитів [2, 31].

Ми виявили різноспрямований, слабо виражений і статистично недостовірний вплив гемолізату на активність факторів протромбінового комплексу. Тут, очевидно, позначився різноспрямований вплив різних еритроцитарних факторів: аналогічних факторам протромбінового комплексу плазми, аналогічних пластичному фактору I, антигепаринового фактора, еритроцитарного антитромбіну [14, 15]. Ми прийшли до висновку, що індекс Квіка — невдалий тест для вивчення коагулюючих властивостей еритроцитів.

Концентрація фібриногену при наявності розведеного і особливо цільного гемолізату різко підвищувалась. Ці результати легко пояснити, якщо врахувати дані Тегесена [30], який першим довів здатність еритроцитів фіксувати фібриноген на своїй поверхні.

Сумарний вплив еритроцитарних факторів на процес гемокоагуляції перевіряли за часом рекальцифікації та об'єктивно реєстрували на електрокоагулографі. Достовірне скорочення часу рекальцифікації, а також скорочення часу початку та закінчення зсідання за даними електрокоагулограми свідчить про значні зрушення у напрямку гіперкоагуляції.

Вплив гемолізату на загальну фібринолітичну активність за Бідвел був статистично недостовірним. Тут, очевидно, позначилась відносна рівновага впливу активаторів [12, 29] та інгібіторів фібринолізу [18] в еритроцитах здорових осіб. Водночас ми підтвердили високу активність фібринстабілізуючого фактора в еритроцитах [1, 20]. У частини здорових осіб в еритроцитах виявлені антиплазміни. Ці дані підтверджують думку Кузника [7] про те, що інгібуючий вплив гемолізованих еритроцитів на фібриноліз переважає над активуючим.

Висновки

1. В еритроцитах здорових осіб виявлені фактори, що прискорюють тромбопластино- та тромбіноутворення, фібриногеноподібний, фібринстабілізуючий та антигепариновий фактори, у деяких здорових осіб — антиплазміни.

2. Комплекс методів, які можна рекомендувати для вивчення коагулюючих властивостей еритроцитів в умовах клініки: час рекальцифікації, споживання протромбіну, тромбіновий час, активність вільного гепарину, концентрація фібриногену, активність фібринстабілізуючого фактора, активність компонентів фібринолітичної системи (метод фібринових плівок) та один з методів, що характеризують фібринолітичну активність у цілому. Краще користуватися цільним, а не розведеним 1:10 гемолізатом еритроцитів (виняток — тест споживання протромбіну, де необхідно дослідити і цільний, і розведений гемолізат).

3. Активність виявлених еритроцитарних факторів гемокоагуляції та фібринолізу у здорових осіб не корелює з кількістю еритроцитів в 1 мм³ крові.

Література

1. Балуда В. П. Значение нарушения активности фибриназы и фазы образования фибрина в патологии гемостаза. — В кн.: Матер. конфер. по пробл. свертывания крови, Баку, 1966, 33—35.
2. Балуда В. П., Горбунова Н. А. — К вопросу о наличии в эритроцитах ингибиторов гепарина. — Бюлл. exper. биол. и мед., 1959, 6, 48—51.
3. Балуда В. П., Жукова Н. А., Рукавенкова Т. Н. Ускоренный метод определения активности фибриназы. — Лабор. дело, 1965, 7, 417—419.
4. Балуда В. П., Маляровский В. П., Ойвин И. А. Лабораторные методы исследования свертывающей система крови. М., Медгиз, 1962.

5. Балуда В. П., Цынкаловс эритроцитах здоровых и б
6. Выговская Я. И. Об изме судистом гемоллизе. — В кн 1966, 6, 105.
7. Кузник Б. И. О влиянии крови. — Физиол. журн. СС
8. Кузник Б. И. О роли эр биол., 1963, 56, 2 (5), 180—
9. Кузник Б. И. Роль форм лацин свертываемости кро
10. Кузник Б. И., Климова К. крови при болезни Макиаф
11. Кузник Б. И., Короткова А. торов свертывания крови. —
12. Кузник Б. И., Слобожански се фибринолиза. — Лабор. д
13. Мельников А. Ф. Влияние нической болезнью на неск свертывания крови и фибри
14. Наумов А. Д. Эритроцитар ных животных. Автореф. дис
15. Потехин К. Г. Свертывак атеросклерозе. Автореф. дис
16. Прогонная В. В. Изменен у больных вяло текущим ре
17. Astrup T., Mullertz S. The Arch. Biochem. Biophys., 195
18. Bayerle H., Kommenhuber 4, 2, 78—85.
19. Bidwel E. Fibrinolysis in h
20. Buluk K., Yanuszeko T., Olb w loznika. — Post. hig. i med.
21. Cocconi G. Effetti sulla fibr da freddo. — Haematologica,
22. Gaertner H., Caen J. Eryth proacelerin, proconvertin an 1735—1738.
23. Gollub S. Action of throm Physiol., 1955, 7, 4, 409—412.
24. Howell W. H. (1914). Klinis sanalyze. Stuttg., 1959, 313.
25. Beller F. K., Quick A. J. Th J. Biol. Chem., 1935, 109, 73—
26. Quick A. J. «Erythrocytin»
27. Quick A. J. Fundamental asp 4, 115—117.
28. Quick A. J., Geordatsos J. C cytes: theoretical and clinica
29. Sakuragawa N. Studies on tic activities of bone marrow tol. Japonica, 1966, 29, 6, 910—
30. Thegesen J. E. The mechanisr
31. Walter G. Über die Gerinn Blut, 1956, 2, 3, 211—216.

Кафедра госпитальной терапии М
Київського медичного інституту

5. Балуда В. П., Цынкаловский И. Б. Факторы свертывания крови, содержащиеся в эритроцитах здоровых и больных людей и животных.— В кн.: Матер. 14 конф. физиологов Юга РСФСР, Краснодар, 1962, 25—26.
6. Выговская Я. И. Об изменениях в свертывающей системе крови при внутрисосудистом гемолизе.— В кн.: Вопросы гематологии и переливания крови, Львов, 1966, 6, 105.
7. Кузник Б. И. О влиянии разрушенных эритроцитов человека на свертываемость крови.— Физиол. журн. СССР, 1962, 11, 1382—1391.
8. Кузник Б. И. О роли эритроцитов в процессе свертывания крови.— Успехи совр. биол., 1963, 56, 2 (5), 180—196.
9. Кузник Б. И. Роль форменных элементов и сердечно-сосудистой системы в регуляции свертываемости крови.— В сб.: XII Междунар. конгр. по переливанию крови. М., «Медицина», 1969, 290.
10. Кузник Б. И., Климова К. Н., Блинова А. И. Об изменениях свертывающей системы крови при болезни Макиава—Микели.— Тер. архив, 1964, 11, 89—97.
11. Кузник Б. И., Короткова А. И. Упрощенные методы изучения тромбоцитарных факторов свертывания крови.— Лабор. дело, 1969, 1, 46—50.
12. Кузник Б. И., Слобожанкина И. К. Об участии разрушенных эритроцитов в процессе фибринолиза.— Лабор. дело, 1965, 8, 481—483.
13. Мельников А. Ф. Влияние интактных эритроцитов здоровых и больных гипертонической болезнью на некоторые показатели свертывания крови.— В сб.: Система свертывания крови и фибринолиз. Киев, 1969, 347—348.
14. Наумов А. Д. Эритроцитарные факторы свертывания крови человека и различных животных. Автореф. дис. Красноярск, 1966.
15. Потехин К. Г. Свертывающие и фибринолитические свойства эритроцитов при атеросклерозе. Автореф. дис. Новокузнецк, 1972.
16. Прогонная В. В. Изменения некоторых показателей эритроцитарного гемостаза у больных вяло текущим ревматизмом.— Врач. дело, 1975, 2, 30—32.
17. Astrup T., Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity.— Arch. Biochem. Biophys., 1952, 40, 346—351.
18. Bayerle H., Kommenhuber K. Über Fermenteffektoren der Fibrinolyse.— Blut, 1958, 4, 2, 78—85.
19. Bidwel E. Fibrinolysis in human plasma.— Biochem. J., 1953, 55, 3, 497—506.
20. Buluk K., Yanuszk T., Olbromski Y., Smrza M., Cudnik M. Krwinkowy stabilizator w loznika.— Post. hig. i med. doswiadez, 1963, 17, 6, 743—755.
21. Cocconi G. Effetti sulla fibrinolisi dell'emolisi in vivo nell'emoglobinuria parossitica da freddo.— Haematologica, 1965, 12, 1338—1350.
22. Gaertner H., Caen J. Erythroplastine: coagulant factor of erythrocytes. Relation to proacelerin, proconvertin and the Stuart factor.— Path. Biol. (Par.), 1961, 9, 17—18, 1735—1738.
23. Gollub S. Action of thromboplastinase of human blood thromboplastin.— J. Appl. Physiol., 1955, 7, 4, 409—412.
24. Howell W. H. (1914). Klinische Methode der Blutgerinnung — (цито. за J. Jürgens nungsanalyse. Stuttg., 1959, 313).
25. Beller F. K., Quick A. J. The prothrombin in hemophilia and obstructive jaundice.— J. Biol. Chem., 1935, 109, 73—74.
26. Quick A. J. «Erythrocytin» and «Erythrochelatine».— Nature, 1957, 179, 4549, 54.
27. Quick A. J. Fundamental aspects of hemophilia.— Acta haemat. (Basel), 1958, 20, 1—4, 115—117.
28. Quick A. J., Geordatsos J. G., Hussey C. V. The clotting activity of human erythrocytes: theoretical and clinical implications.— Am. J. Med. Sci., 1954, 288, 2, 207—213.
29. Sakuragawa N. Studies on the fibrinolytic activity of red blood cells. I. Fibrinolytic activities of bone marrow red blood cells and venous red blood cells.— Acta Haematol. Japonica, 1966, 29, 6, 910—927.
30. Thegesen J. E. The mechanism of blood sedimentation, Copenhagen, 1942.
31. Walter G. Über die Gerinnungsaktivität hämolysierter menschlicher Erythrozyten.— Blut, 1956, 2, 3, 211—216.

Кафедра госпітальної терапії № 2
Київського медичного інституту

Надійшла до редакції
28.VI 1976 у.

G. A. Belitskaja, L. P. Musienko
 PARTICIPATION OF ERYTHROCYTES
 IN HEMOCOAGULATION AND FIBRINOLYSIS
 PROCESSES IN HEALTHY PEOPLE

Summary

Erythrocytes participation in the processes of hemocoagulation and fibrinolysis was studied in 34 healthy people. Some parameters of hemocoagulation and fibrinolysis in the plasma were studied as affected by whole and diluted (1:10) hemolysate of erythrocytes. The destroyed erythrocytes of healthy people are confirmed to contain the factors accelerating the thromboplastino- and thrombinopoiesis, namely: fibrinogen-like, fibrin-stabilizing and antiheparinic; antiplasmins were found in a certain part of healthy people. No correlative dependence is observed between the activity in the found erythrocytic factors of hemocoagulation and fibrinolysis and the amount of erythrocytes in 1 mm³ of healthy people blood. A complex of methods is recommended for studying the coagulating properties of erythrocytes under clinical conditions.

Department of Hospital Therapy No 2,
 Medical Institute, Kiev

УДК 612.015.1/313/.32

А. П. Левицький, С.

ВПЛИВ САЛІВ

Серед біологічно активних ферментів— калікреїнів— є їх чітко виражена біологічна активність в організмі людини. Їх внутрішньому введенню в кров тиску [3, 12, 15], посилюють збільшують кровонаповнення [7, 17].

Дослідженнями останніх років вивчено, що калікреїни є активними речовинами, зокрема, в крові [9, 11, 19, 20]. Вивчення логастру показало, що (N- α -бензоїл-L-аргінин-етер) ховуючи це, ми припустили, що лікреїни. Деякою мірою румунських авторів [13] кову секрецію внутрішніх калікреїнів.

Ми вивчали вплив вивчення (ну) підщеплених залоз на

Досліди проведені на 18 початку дослідів у шурів вида

ліваїну. За 24 год до початку дослідів. Споживання води при цьому в'язуванням пілоруса [22]. До концентрацію білка в шлунковому визначали за розщепленням 2 приймали кількість ферменту, інкубації при +37° С [5]. Загнієм лугом. Виділення саліваїні еккінена та ін. у нашій модифікації ламідному гелі (рН 8,3) встановлювали визначали за гідролізацією у модифікації Барабаш в естеразних одиницях калікреїнів методом з допомогою електроду [4]. Одержаний препарат є гіпотензивну активність. Змішав (5 мг/кг) під нембуталовим на естеразну активність слини стигматичну обробку одержаних