

4. A ribonucleotide reductase gene involved in a p53-dependent cell-cycle checkpoint for DNA damage / Tanaka H., Arakawa H., Yamaguchi T., et al. // *Nature*. – 2000. – Vol.404. – P.42-49.
5. Liu M.C., Gelmann E.P. P53 gene mutations: case study of a clinical marker for solid tumors // *Semin. Oncol.* – 2002. – Vol.29. – P.246-257.
6. Peller S., Rotter V. TP53 in hematological cancer: low incidence of mutations with significant clinical relevance // *Hum. Mutat.* – 2003. – Vol.21. – P.277-284.
7. Vaehaekangas K. TP53 Mutations in Workers Exposed to Occupational Carcinogens // *Hum. Mutat.* – 2003. – Vol.21. – P.240-251.
8. Pooled analysis of p53 mutations in hematological malignancies / Prokocimer M., Unger R., Rennert H.S., et al. // *Hum. Mutat.* – 1998. – Vol.12. – P.4-18.
9. Imamura N., Kriatchok I.A., Klimentenko V.I. Expression and point mutations of p53 suppressor oncogene in patients with myelodysplastic syndrome among atomic-bomb survivors and victims of the Chernobyl accident // *Eksp. Onkol.* – 1996. – Vol.18. – P.333-337.
10. Chernobyl accident: retrospective and prospective estimates of external dose of the population of Ukraine / Likhtarev I.A., Kovgan L.N., Jacob P., Anspaugh L.R. // *Health Phys.* – 2002. – Vol.82. – P.290-303.
11. Дозиметрия ликвидаторов через 14 лет после Чернобыльской аварии: проблемы и достижения / Чумак В.В., Баханова Е.В., Мусняченко Н.В. и др. // *Межд. Журн. Радиаци. Медицины.* – 2000. – Vol.1. – С.26-45.
12. Preudnomme C., Fenaux P. The clinical significance of mutations of the p53 tumor suppressor gene in haematological malignancies // *Br. J. Haematol.* – 1997. – Vol.98. – P.502-511.

13. Gyllensten U.B., Erlich H.A. Generation of single-stranded DNA by the polymerase chain reaction and its application to direct sequencing of the HLA-DQA locus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol.85. – P.7652-7656.

14. Christiansen D.H., Andersen M.K., Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol.19. – P.1405-1413.

Klymenko S.V., Imamura N., Klimentenko V.I.

P53 Suppressor Oncogene Mutations in Radiation-Associated Acute Myeloid Leukemia

Summary. Leukemia cells samples of twenty patients with acute myeloid leukemia (AML) were analyzed for the presence of p53 gene mutations by polymerase chain reaction and single-strand conformational polymorphism analysis. Of these patients, there were 8 clean-up workers of the Chernobyl accident, and 12 inhabitants of Ukrainian territories with a high contamination of radionuclide fallout. The p53 mutations were found in four cases. The difference between expected for spontaneous AML p53 mutations level of 10% and mutations frequency found in our study did not reach statistical significance. AML patients with p53 mutations had shorter overall survival ($P < 0,05$) than those without gene alteration. The presence of p53 mutation should be taken into account at AML patient treatment planning.

Key words: acute myeloid leukemia, p53, mutation, ionizing radiation, Chernobyl accident.

Надійшла 27.09.2004 року.

УДК: 616.24-007.272:616.41:616-005.1-08

Коваленко С.В., Андрусак О.В.

Зміни гемокоагуляційної ланки гемостазу у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень

Кафедра госпітальної терапії, клінічної фармакології та професійних хвороб (зав. каф. - д.мед.н., проф. М.Ю.Коломосць)
Буковинської державної медичної академії, м. Чернівці

Резюме. У 50 хворих на хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) оцінювали стан показників плазмової ланки системи гемостазу: за рівнем фібриногену в плазмі; активністю антитромбіну III; XIII фактора; Хагеман-залежного фібринолізу; плазміногену та антиплазміну; фібринолітичною активністю крові; визначенням інтенсивності лізису азоказеїну, азоальбуміну та азоколу. При загостренні ХОЗЛ спостерігається зниження рівня фібриногену в крові, активація сумарної фібринолітичної активності плазми крові, на фоні гальмування ферментативного та Хагеман-залежного фібринолізу, та компенсаторного підвищення неферментативного фібринолізу.

Ключові слова: хронічні обструктивні захворювання легень, гемостаз, фібриноген.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) до 2020 року вийдуть на 3 місце серед основних причин смертності у світі [4]. На даний час активно вивчаються такі фактори етіопатогенезу ХОЗЛ, як синдром „поганих бронхів”, бронхіальна гіперреактивність, дисбаланс протеолітичних ферментів із їх інгібіторами, синдром „нерушливих війок”, генетичний дефект імуноглобуліна А, зниження здатності фагоцитуючих клітин до хемотаксису і генерації активних форм кисню. Досить багато досліджень присвячено особливостям морфології і функції легень при ХОЗЛ. Однак один аспект захворювання зовсім випав із поля зору пульмонологів. Мова

йде про стан показників плазмової ланки системи гемостазу та фібринолітичної активності крові у хворих. Легені - одне з наймогутніших джерел, звідки кров поповнюється активаторами плазміногену, прокоагулянтами, що утворюються у мононуклеарних фагоцитах цього органу. При хронічних обструктивних захворювань легень значно знижується рівень активаторів плазміногену в крові та підвищується рівень інгібітора цього процесу активації фібринолізу, що сприяє накопиченню фібрину в тканинах легень з подальшим фіброзом останніх [5]. Дані літератури про особливості системи гемостазу при ХОЗЛ нечисельні та суперечливі [2,5,6,7].

Мета дослідження. Вивчити особливості порушень гемокоагуляційної ланки системи гемостазу у хворих на ХОЗЛ.

Матеріали і методи дослідження

Обстежено 50 хворих на ХОЗЛ без клінічних ознак легеневого серця (середній вік $(53,4 \pm 9,2)$ років, стаж паління $(25,3 \pm 6,7)$ пачко-років та початком захворювання у віці після 35 років) із подібними клінічними проявами та 10 фізіологічно старіючих людей відповідного віку. Діагноз ХОЗЛ був поставлений згідно відповідних критеріїв [3]. Оцінювали загальний коагуляційний потенціал крові (3 фази) за рівнем фібриногену в плазмі; антизгортаючий потенціал крові (активність антитромбіну III (АТIII); фібринолітичний потенціал крові (активність Хагеман-залежного фібринолізу, сумарну (СФА), неферментативну (НФА) та ферментативну (ФФА) фібринолітичну активність крові, потенційну активність плазміногену (ПАПГ) та антиплазміни); посткоагуляційну фазу (кількісне визначення активності XIII фактора (фібринази)), а також визначення інтенсивності лізису азоказеїну, азоальбуміну та азоколу, в крові проводилося за допомогою реактивів фірми "Simko Ltd".

Результати дослідження та їх обговорення

У хворих на ХОЗЛ спостерігалось зниження рівня фібриногену в 2 рази порівняно з контрольною групою, що становило $2,23 \pm 0,76$ та $4,66 \pm 0,39$ г/л відповідно ($p < 0,001$). Це можна пояснити підвищенням локальним споживанням фібриногену при вираженому запальному процесі у легенях. За рахунок підвищеної проникності капілярів фібриноген відкладається та накопичується в мікроциркуляторному руслі, в стінках судин та бронхів, викликаючи фіброз органу та призводячи до прогресування легеневої гіпертензії. Окрім того, перетворюючись у фібрин, фібриноген здатний зв'язувати ліпопротеїди низької щільності та стимулювати проліферацію гладенько-м'язевих клітин.

Встановлено, що у хворих на ХОЗЛ відбуваються гіперкоагуляційні зміни за рахунок активації неферментативного фібринолізу. Спостерігалось зростання активності плазмових факторів згортання крові, а саме: СФА зростала порівняно із віковою нормою і становила $1,42 \pm 0,06$ та $1,31 \pm 0,08$ Е440/мл/год відповідно ($p > 0,05$). Найбільше зростала НФА - відносно норми ($0,48 \pm 0,04$) на 35 % і становила $0,65 \pm 0,03$ Е440/мл/год, ($p < 0,001$). При дослідженні рівня НФА достовірно підвищення відзначалося зростанням його питомої ваги в структурі СФА. Показник ФФА в усіх досліджуваних групах достовірно ($p < 0,05$) знижувався порівняно з групою практично здорових на 8 % (табл. 1).

Помірне зростання СФА, зниження ФФА, підвищення НФА може сприяти утворенню мікроскопічних тромбоцитарних і фібринових згустків в системі гемомікроциркуляції [5], призводячи до розвитку внутрішньосу-

Таблиця 1. Показники плазмової ланки гемостазу у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень (М \pm м)

Показники	Контрольна група (n=10)	Хворі на ХОЗЛ (n=50)	p
Фібриноген, г/л	4,66 \pm 0,39	2,23 \pm 0,76	< 0,001
СФА, Е440/мл/год	1,31 \pm 0,08	1,42 \pm 0,06	> 0,05
НФА, Е440/мл/год	0,48 \pm 0,04	0,65 \pm 0,03	< 0,001
ФФА, Е440/мл/год	0,83 \pm 0,04	0,77 \pm 0,03	< 0,05
ПАПГ, хв	15,32 \pm 0,97	22,63 \pm 0,76	< 0,05
Антиплазміни, %	99,27 \pm 2,45	82,03 \pm 1,44	< 0,05
ПАК, Е440/мл/год за азоальбуміном	2,91 \pm 0,29	4,14 \pm 0,54	< 0,001
ПАК, Е440/мл/год за азоказеїном	2,16 \pm 0,19	4,12 \pm 0,11	< 0,001
ПАК, Е440/мл/год за азоколом	0,44 \pm 0,07	1,07 \pm 0,04	< 0,001
АТ III, %	95 \pm 6	77,13 \pm 4,5	< 0,05
Хагеман-залежний фібриноліз, хв.	20 \pm 5	33,83 \pm 1,96	< 0,001
XIII фактор, %	100 \pm 5	64 \pm 2,62	< 0,001

Примітка: СФА - сумарна фібринолітична активність; НФА - неферментативна фібринолітична активність; ФФА - ферментативна фібринолітична активність; ПАПГ - потенційна активність плазміногену; ПАК - протеолітична активність плазми крові за азоальбуміном, азоказеїном, азоколом; АТIII - активність антитромбіну III.

динного мікрозгортання крові з прогресуванням патологічного процесу в бронхо-легеневій системі [1]. Вищевказане призводить до порушення локального кровообігу, дифузійно-вентиляційних порушень в альвеолярних мембранах з подальшим наростанням гіпоксії, активацією САС, десенситизацією β -рецепторів на мембранах клітин - замикаючи „хвибне” коло. Що, в подальшому, при прогресуванні запального процесу, призводить до розвитку деструктивно-фіброзних змін бронхів та незворотної бронхіальної обструкції.

Депресія ФФА у хворих на ХОЗЛ є одним з факторів, що створює умови для відкладення фібрину, та, можливо, є основою формування фіброзу. Ферментативний фібриноліз залежить від кількості плазміногену; звільнення тканинного активатора плазміногену, значну кількість якого містять легені; рівня інгібіторів активаторів плазміногену [5]. Так, досліджуючи рівень потенційної активності плазміногену, ми спостерігали достовірне $22,63 \pm 0,76$ та $15,32 \pm 0,97$ хв., відповідно, ($p < 0,05$) зростання цього показника у порівнянні з практично здоровими. Активність антиплазміну була достовірно ($p < 0,05$) знижена у хворих на ХОЗЛ, $82,03 \pm 1,44$ у порівнянні із $99,27 \pm 2,45$ (%) у нормі. Цей факт на фоні зростання потенційної активності плазміногену може вказувати на пригнічення ферментативного фібринолізу в основному за рахунок підвищення рівня антиактиваторів плазміногену.

У хворих на ХОЗЛ встановлено підвищення інтенсивності лізису високомолекулярних білків. Спостерігалось вірогідне зростання протеолітичної активності плазми крові за азоальбуміном на 42 % ($p < 0,001$), азоказеїном у 2 рази ($p < 0,001$), та азоколом у 2,5 рази ($p < 0,001$). Таким чином, у хворих на ХОЗЛ зростає інтенсивність протеолітичної деградації колагену, очевидно, пов'язана із посиленням його синтезом у легенях. Активація протеолізу може призводити до підвищення мітотичної активності в бронхолегеневому апараті, чим пояснюються атрофічні зміни та метаплазія слизової оболонки бронхів

на фоні підвищеної проліферації клітин сполучної тканини і, як наслідок, - розвиток фіброзу та склерозу бронхіального дерева. Зміни протеолітичної активності створюють умови для збільшення в'язкості пристінкового шару плазми в дрібних капілярах та підвищення концентрації в плазмі речовин, які підсилюють агрегаційну функцію формених елементів крові.

За рахунок викиду серинових протеаз при загостренні ХОЗЛ відбувається активація згортаючої системи крові, як наслідок - підвищене споживання АТІІІ, інгібітору протеаз, достовірне ($p < 0,05$) зниження якого спостерігалося у хворих. Достовірне ($p < 0,05$) зниження рівня Хагеман-залежного фактору (збільшення часу лізису еуглобулінового згустку) у досліджуваних хворих свідчить про порушення внутрішнього механізму активації плазміногену, що вказує на підвищення прокоагуляційної активності крові. Скоріше всього, активність XII фактору направлена на реалізацію I фази зсідання крові (а саме утворення тромбокінази за „внутрішнім” шляхом), що, можливо, відбувається за рахунок зниження рівня АТІІІ; активації калекреїн-кінінової системи при ХОЗЛ; збільшення площі чужерідної поверхні (оголення колагену) за рахунок розвитку склеротичних та фіброзних змін бронхів та підвищення колагеназної активності плазми. Ми спостерігали достовірне зниження рівня Хагеман-залежного фібринолізу ($p < 0,001$) за рахунок збільшення часу лізису еуглобулінового згустку - $33,83 \pm 1,96$ (хв.) у хворих на ХОЗЛ у порівнянні із 20 ± 5 (хв.) у здорових осіб, що свідчить про порушення посткоагуляційної фази згортання крові.

Виявлено достовірне на 36% ($p < 0,001$) зниження рівня XIII фактору при загостренні у хворих на ХОЗЛ. Цей факт при зниженому рівні фібриногену в крові може свідчити про підвищення споживання XIII фактору в умовах зростання його локальної потреби.

Активация плазматичного фібринолізу у хворих на ХОЗЛ, обумовлена зниженим вмістом антиплазмінів. Вірогідно відбувається перерозподіл концентрації рівня фібриногену - зростання рівня в легенях та зменшення у крові.

Висновки

При загостренні хронічних обструктивних захворювань легень спостерігається зниження рівня фібриногену в крові; дисбаланс між системами згортання та протизгортання крові: активація сумарної фібринолітичної активності плазми крові, на фоні гальмування ферментативного та Хагеман-залежного фібринолізу, та компенсаторного підвищення неферментативного фібринолізу.

Перспективи подальших досліджень. Доцільним є на нашу думку продовження дослідження впливу різнома-

нітних чинників патогенезу ХОЗЛ, а саме рівня катехоламінів у плазмі та еритроцитах, на стан протеолітичної та фібринолітичної активності крові у хворих. У лікуванні ХОЗЛ мало уваги надається застосуванню препаратів, що впливають на гемостаз з метою корекції виявлених порушень, не вивчено вплив різних груп бронходилаторів на показники плазматичної та гуморальної ланки системи гемостазу. Актуальним видається дповнення базисного лікування препаратами, що покращують мікроциркуляцію в легенях тощо, особливо у хворих на ХОЗЛ похилого віку з супутніми захворюваннями серцево-судинної системи.

Література

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: Ньюдиамед, 2001. - 286 с.
2. Лещенко С.И. Состояние плазменного звена гемостаза у больных с хроническим легочным сердцем // Укр. терап. журн. - 2001. - Т.3, №2. - С.78-80.
3. Наказ МОЗ України № 499 від 28.10.2003 р. "Про затвердження інструкцій щодо надання допомоги хворим на туберкульоз та неспецифічні захворювання легень".
4. Фещенко Ю.І. Новые подходы в лечении и диагностике хронических обструктивных бронхитов // Укр. пульм. журн. - 2003. - №1. - С.5-11.
5. Lanser K. Hemorheology in chronic lung diseases // Clin. Hemorheol. - 1984. - Vol. 4. - P.67-74.
6. Michael A., Matthay and John A. Clements. Coagulation-dependent mechanisms and asthma // J. Clin. Invest. - 2004. - Vol.114. - P. 20-23.
7. Wagers S.S. Extravascular fibrin, plasminogen activator, plasminogen activator inhibitors, and airway hyperresponsiveness // J. Clin. Invest. - 2004. - Vol. 114. - P.104-111.

Kovalenko S.V., Andrusiak O.V.

Changes of the Haemocoagulation Chain of Hemostasis in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Diseases

Summary. The authors have studied the state of the parameters of the plasmatic component in the system of hemostasis in 50 patients with chronic obstructive pulmonary diseases (COPD): according to the level of plasma fibrinogen; the activity of antithrombin III; factor XIII; Hageman's fibrinolysis; plasminogen and antiplasmins; the blood fibrinolytic activity; by means of evaluating the lytic activity of azocasein, azoalbumin and azocol. A decrease of the level of fibrinogen, the activation of the total fibrinolytic activity in the blood plasma against a background of inhibiting enzymatic and Hageman-dependent fibrinolysis and a compensatory increase of non-enzymatic fibrinolysis are observed in case of a COPD exacerbation.

Key words: chronic obstructive pulmonary diseases, hemostasis, fibrinogen.

Надійшла 15.11.2004 року.