

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ПОКАЗНИКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ

Вступ. Антифосфоліпідний синдром (АФС) – це автоімунне захворювання, що характеризується артеріальними та венозними тромбозами, тромбоцитопенією. Він є причиною невиношування вагітності у 27–42 % випадків.

Мета дослідження – оцінити вплив L-аргініну та аміногуанідину на показники системи згортання крові й рівень тромбоцитів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому до вагітності та на її фоні.

Методи дослідження. Антифосфоліпідний синдром моделювали на мишах-самках лінії BALB/c. Для корекції використовували L-аргінін (25 мг/кг) та аміногуанідин (10 мг/кг). Досліджували кількість тромбоцитів, концентрацію фібриногену і показники коагулограми.

Результати й обговорення. У результаті виконаних досліджень у тварин з АФС до вагітності й на 18-й день вагітності встановлено зниження кількості тромбоцитів, підвищення концентрації фібриногену, вкорочення активованого часткового тромбoplastинового часу і протромбінового часу, збільшення протромбінового індексу та зменшення міжнародного нормалізованого співвідношення відносно показників контрольних груп. На фоні введення L-аргініну в мишей з АФС до вагітності й на 18-й день вагітності відзначено зростання кількості тромбоцитів та зниження концентрації фібриногену щодо тварин з АФС. Водночас у тварин з АФС встановлено подальше вкорочення активованого часткового тромбoplastинового часу, а у вагітних мишей з АФС спостерігали його подовження і збільшення міжнародного нормалізованого співвідношення. При введенні аміногуанідину у тварин з АФС відмічено подальше вкорочення активованого часткового тромбoplastинового часу, зменшення протромбінового часу та міжнародного нормалізованого співвідношення відносно інтактних тварин. У мишей з АФС до вагітності та на її фоні спостерігали зростання протромбінового індексу при введенні аміногуанідину.

Висновки. Встановлено схильність до гіперкоагуляції та ризик тромбоутворення у самок з антифосфоліпідним синдромом, що є одним із провідних патобіохімічних аспектів невиношування вагітності при цій патології. L-аргінін сприяє відновленню показників гемокоагуляції та нормалізації кількості тромбоцитів, а аміногуанідин у мишей з антифосфоліпідним синдромом та з антифосфоліпідним синдромом на фоні вагітності призводить до прогресування змін коагулограми, що свідчать про зростання схильності до тромбоутворення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антифосфоліпідний синдром; вагітність; оксид азоту; гемостаз.

ВСТУП. Антифосфоліпідний синдром (АФС) продовжує залишатись однією з найбільш актуальних мультидисциплінарних проблем сучасної медицини, незважаючи на досягнутий прогрес у вивченні механізмів розвитку, клінічних особливостей та підходів до лікування [1]. Поєднуючись з іншими порушеннями, він ускладнює перебіг вагітності. Антифосфоліпідний синдром є причиною невиношування вагітності у 27–42 % випадків. Згідно з даними літератури, загибель ембріона/плода без лікування в жінок з АФС становить 80–95 % [2, 3]. Антифосфоліпідні антитіла (аФЛ) трапляються у вагітних з прееклампсією з частотою від 18 до 28 % [4].

© О. З. Яремчук, 2020.

Критерії достовірного діагнозу АФС включають клінічні прояви і лабораторні маркери [5]. Показаннями до обстеження при підозрі на цей синдром є: декілька втрат морфологічно нормального плода понад 10 тижнів; смерть плода в II чи III триместрі; розвиток тяжкої прееклампсії до 34-го тижня або затримка внутрішньоутробного розвитку плода при відсутності в батька чи матері хромосомних аномалій; артеріальний або венозний тромбоз [6]. До серологічних маркерів АФС, згідно з Міжнародними діагностичними критеріями, належать антитіла до кардіоліпіну (аКЛ), вовчаковий антикоагулянт, а також антитіла до β 2-глікопротеїну-1 (анти- β 2-ГП1). Для включення до цих маркерів синдрому інших антитіл, таких,

як антитіла до протромбіну, комплексу протромбін/фосфатидилсерин, анексину, імуноглобулінів класу А (IgA-аКЛ, IgA-анти-β2-ГП1) та ін., необхідно проводити подальші дослідження [5].

Характерною особливістю АФС є рецидивні тромбози. При цьому синдромі венозні тромбози виникають у 2 рази частіше, ніж артеріальні. Тромби зазвичай локалізуються в глибоких венах нижніх кінцівок, але можуть траплятися і в печінкових, підключичних, ниркових та інших. Вважають, що АФС – це друга за частотою причина розвитку синдрому Бадда – Кіарі. Тромбоз внутрішньомозкових артерій, що призводить до інсульту і транзиторних ішемічних атак, – найчастіший варіант артеріального тромбозу при АФС. Вважають, що в жінок, молодших 50 років, частота інсультів, що асоціюються з утворенням антифосфоліпідних антитіл, досягає 40 %. З точки зору диференційної діагностики, наявність тромботичних ускладнень не можна пов'язувати тільки з АФС. Загалом у популяції тільки в 10 % хворих з венозними тромбозами виявляють аФЛ [1].

Антифосфоліпідні антитіла мають здатність впливати на процеси гемостазу, а також через систему комплементу викликати імуноопосередковані порушення згортання крові. Їх пряма дія на компоненти системи згортання крові призводить до гіперкоагуляції [5]. Антифосфоліпідні антитіла безпосередньо зв'язуються з тромбіном, блокуючи його взаємодію з антитромбіном, а також із протеїном С та протеїном S, інгібуючи їх антикоагуляційну функцію. Вони впливають на тромбоцити і можуть стимулювати їх активацію, що супроводжується підвищенням біосинтезу глікопротеїну 2b-3a і тромбоксану А2. Антифосфоліпідні антитіла можуть взаємодіяти з ендотеліальними клітинами і моноцитами, індукуючи в ендотелії утворення молекул адгезії [5, 7, 8].

При взаємодії аФЛ з фосфоліпідами клітинних мембран важливу роль відіграють протеїнокофактори, які входять до складу протеїнофосфоліпідних комплексів, в основному це β2-глікопротеїн-1 (β2-ГП1). Такими кофакторами можуть бути й інші протеїни, що беруть участь у регуляції згортання крові: протромбін (фактор II), протеїн С, протеїн S, анексин V, тромбомодулін, фактор V, фактор VII/VIIa, фактор XII, високомолекулярний і низькомолекулярний кініноген, гепарин та ін. Антифосфоліпідні антитіла, взаємодіючи з відповідними мембранозв'язаними протеїнами, можуть змінювати кінетику прокоагулянтних і антикоагулянтних реакцій [5].

β2-глікопротеїн-1 зв'язує аніонні фосфоліпіди і може пригнічувати фосфоліпідозалежні коагуляційні реакції, що дозволяє вважати його

фізіологічним антикоагулянтом [2, 3]. Він може взаємодіяти з фактором XI згортання крові *in vitro* та блокувати його активацію тромбіном і фактором XIIa. Бере участь у регуляції системи фібринолізу. Може безпосередньо взаємодіяти з тканинним активатором плазміногена і 20-кратно підвищувати активацію плазміногена [5]. β2-глікопротеїн-1 пригнічує протромбіназну активність і АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів. Антифосфоліпідні антитіла зв'язуються з ендотеліальними клітинами і тромбоцитами тільки за присутності β2-ГП1 [2, 3]. Нещодавно було запропоновано новий патогенетичний механізм з участю β2-ГП1 у розвитку АФС, в якому задіяний тромбоцитарний фактор 4 (PF4). Цей фактор є представником С-Х-С-сімейства хемокінів, який синтезується мегакаріоцитами і зберігається в α-гранулах тромбоцитів. Він присутній у кровотоці у вигляді тетрамера, і після взаємодії з ним β2-ГП1 димеризується. Утворюються протеїнові комплекси, що складаються з димера β2-ГП1 і тетрамера PF4, які володіють високою спорідненістю до аФЛ, взаємодіють з мембранами тромбоцитів та моноцитів, активуючи ці клітини і викликаючи їх агрегацію, а також індукують автоімунну відповідь організму [5].

Зміни в системі гемостазу у вагітних жінок насамперед пов'язані з появою нового кола кровообігу – матково-плацентарного, необхідного для повноцінного забезпечення плода киснем і поживними речовинами [4]. У період вагітності відбуваються зміни в системі гемостазу, спрямовані на посилення активності факторів згортання крові. Це зумовлено тим, що в стінках судин, які забезпечують плацентарний кровотік, немає шару, що дозволяє запобігти згортанню крові всередині судин. На тканинах плаценти регулярно накопичуються нитки фібрину, які повинні розчинятися, щоб вони не порушували кровообігу. Саме тому показники, що відображають рівень коагуляції і фібринолізу в здорових жінок, під час вагітності підвищені [9]. За даними літератури [4], відомо, що в I триместрі вагітності не відбувається суттєвих змін у системі гемостазу, проте в II і III триместрах спостерігають гіперкоагуляцію і збільшення фібринолітичної активності порівняно з показниками здорових невагітних жінок. При високому рівні аФЛ ушкодження судин наростають у результаті додаткового впливу специфічних аФЛ на ендотелій судинної стінки [4]. Наявність аФЛ підтверджується у 20–40 % жінок із звичними викиднями. Антифосфоліпідні антитіла активують прокоагуляційний стан і збільшують ризик виникнення тромбозів, плацентарної недостатності, внутрішньоматкової затримки росту плода, прееклампсії, завмирання плода в пізні терміни вагітності [10].

У нормі в усіх вагітних утворюються антитіла до ендотелію судинної стінки: перший пік наростання титру антитіл пов'язаний із плацентациєю, другий – з васкуляризацією, міграцією і старінням плаценти, а третій – з пологами. Перманентне збільшення титру антитіл до ендотелію є патологічним станом, який передуює підвищенню титру аФЛ. Ще одна особливість змін в імунній системі матері при вагітності – це поява фетальних антитіл з аналогічним гестаційним піком наростання. На тлі автоімунного процесу виникає дисбаланс між виробленням антигенів та їх зв'язуванням, в імунній відповіді беруть участь система гемостазу, нейроендокринна і протеазно-інгібіторна системи [4]. Клінічні прояви АФС залежать від лабораторного титру антифосфоліпідних антитіл і терміну вагітності, під час якого вони утворюються. Найявніші антитіла до фосфоліпідів у I триместрі вагітності може стати пусковим моментом самовільного аборту; II триместр вагітності в жінки, яка має АФС, характеризується ознаками внутрішньоутробної затримки розвитку плода і виникненням прееклампсії; III триместр небезпечний щодо розвитку таких ускладнень, як внутрішньоутробна загибель плода, передчасні пологи [11].

Патобіохімічні механізми АФС висвітлено достатньо, проте є лише поодинокі дослідження про вплив модуляторів синтезу NO на порушення системи згортання крові за умов цього синдрому.

Мета дослідження – оцінити вплив L-аргініну та аміногуанідину на показники системи згортання крові й рівень тромбоцитів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому до вагітності та на її фоні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на мишах-самках лінії BALB/c, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти виконували з дотриманням принципів біоетики відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), і Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

Антифосфоліпідний синдром моделювали за допомогою кардіоліпіну ("Sigma", США), який вводили внутрішньом'язово 4 рази (30 мкг на одну ін'єкцію, проміжки між ін'єкціями становили 14 діб) [12]. Для підвищення ефективності імунної відповіді кардіоліпін емульгували в 75 мкл повного ад'юванту Фрейнда (перша

ін'єкція), наступні ін'єкції проводили з неповним ад'ювантом Фрейнда. Піддослідних тварин поділили на такі групи: I, Ia (контроль) – тварини без АФС; II, IIa – тварини з експериментальним АФС; III, IIIa – тварини з АФС, яким вводили L-аргініну гідрохлорид ("Sigma", США, 25 мг/кг); IV, IVa – тварини з АФС, яким вводили аміногуанідин ("Химлабораторреактив", Україна, 10 мг/кг). L-аргінін та аміногуанідин вводили внутрішньочеревно один раз на день, повторно впродовж 10-ти діб після формування АФС та протягом 17-ти діб вагітності. Через 10 діб з моменту підтвердження АФС мишей I–IV груп виводили з експерименту за умов тіопентал-натрієвого наркозу (внутрішньочеревне введення 1% розчину з розрахунку 50 мг/кг маси тварини). Через 10 діб після початку терапії спарювали самок Ia–IVa груп із самцями у співвідношенні 1 самець на 3 самки та виводили з експерименту на 18-й день вагітності за умов тіопентал-натрієвого наркозу.

Дослідження проводили за допомогою двоканального напівавтоматичного коагулометра фірми "Humaclot Quo Human", що базується на оптичних методах реєстрації згортання крові. Кількість тромбоцитів визначали на автоматичному гематологічному аналізаторі.

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програми STATISTICA 10. Порівнювали отримані величини з використанням U-критерію Манна – Уїтні. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При фізіологічній вагітності адаптаційною реакцією системи гемостазу є збільшення концентрації факторів згортання крові та функціональної активності тромбоцитів. При вагітності на фоні захворювань, що перебігають з порушенням системи гемостазу, ризик тромбоутворення в судинах організму вагітної та фетоплацентарного комплексу зростає [11].

У результаті виконаних досліджень встановлено зниження кількості тромбоцитів на 12% у групі тварин з АФС порівняно з інтактними та на 27% у мишей з АФС на 18-й день вагітності порівняно з показниками групи вагітних тварин без АФС (рис. 1). Тромбоцитопенія трапляється у 28% випадків первинного АФС та у 22% випадків вторинного АФС [8]. Антитіла до фосфатидилсерину, взаємодіючи з фосфоліпідами мембран тромбоцитів і ендотеліальних клітин судин, викликають їх порушення, розвиток тромбозів та тромбоемболій [13].

Стан фізіологічної гіперкоагуляції в материнському організмі нейтралізується багатьма плацентарними факторами [4]. Дослідження [4]

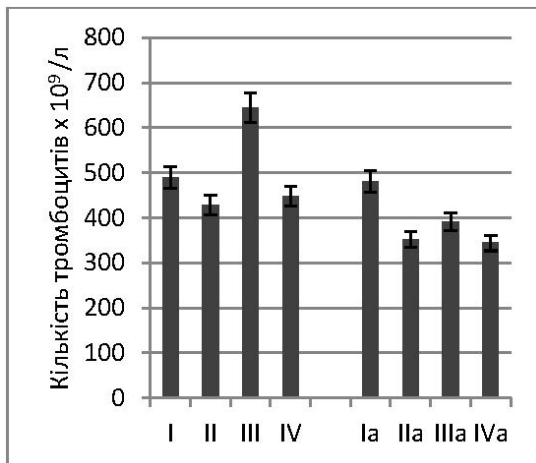


Рис. 1. Кількість тромбоцитів у крові мишей лінії BALB/c з антифосфоліпідним синдромом до вагітності й на 18-й день вагітності та на фоні застосування L-аргініну й аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

Примітка. Тут і на рисунку 2 умовні позначення груп тварин: I – інтактні; II – антифосфоліпідний синдром; III – антифосфоліпідний синдром+L-аргінін; IV – антифосфоліпідний синдром+аміногуанідин; Ia – контроль на 18-й день вагітності; IIa – антифосфоліпідний синдром на 18-й день вагітності; IIIa – антифосфоліпідний синдром+L-аргінін на 18-й день вагітності; IVa – антифосфоліпідний синдром+аміногуанідин на 18-й день вагітності.

показали, що при фізіологічній вагітності в II і III триместрах спостерігають гіперкоагуляцію і збільшення фібринолітичної активності. Фібриноген – розчинний протеїн плазми крові, з якого під дією тромбіну утворюється полімерний фібрин. Підвищення концентрації фібриногену є одним з основних факторів ризику виникнення серцево-судинних захворювань і призводить до розвитку тромботичних ускладнень та інфаркту міокарда [14].

У мишей лінії BALB/c з АФС спостерігали підвищення концентрації фібриногену на 21 % (до вагітності) та 43 % (на фоні вагітності) (рис. 2, А), що свідчило про гіперкоагуляцію [4]. На думку ряду авторів, розвиток гіперкоагуляції та вповільнення фібринолізу зумовлені в основному впливом тромбоцитарних і тканинних факторів згортання крові, які надходять із плаценти [4]. У вагітних збільшується концентрація фібриногену в плазмі [9]. Є дані про підвищення його рівня в крові хворих на системний червоний вовчак. Встановлено, що при системному червоному вовчаку зростає позаклітинне фосфорилювання фібриногену, що корелює з активацією тромбоцитів. Останнім часом досить багато

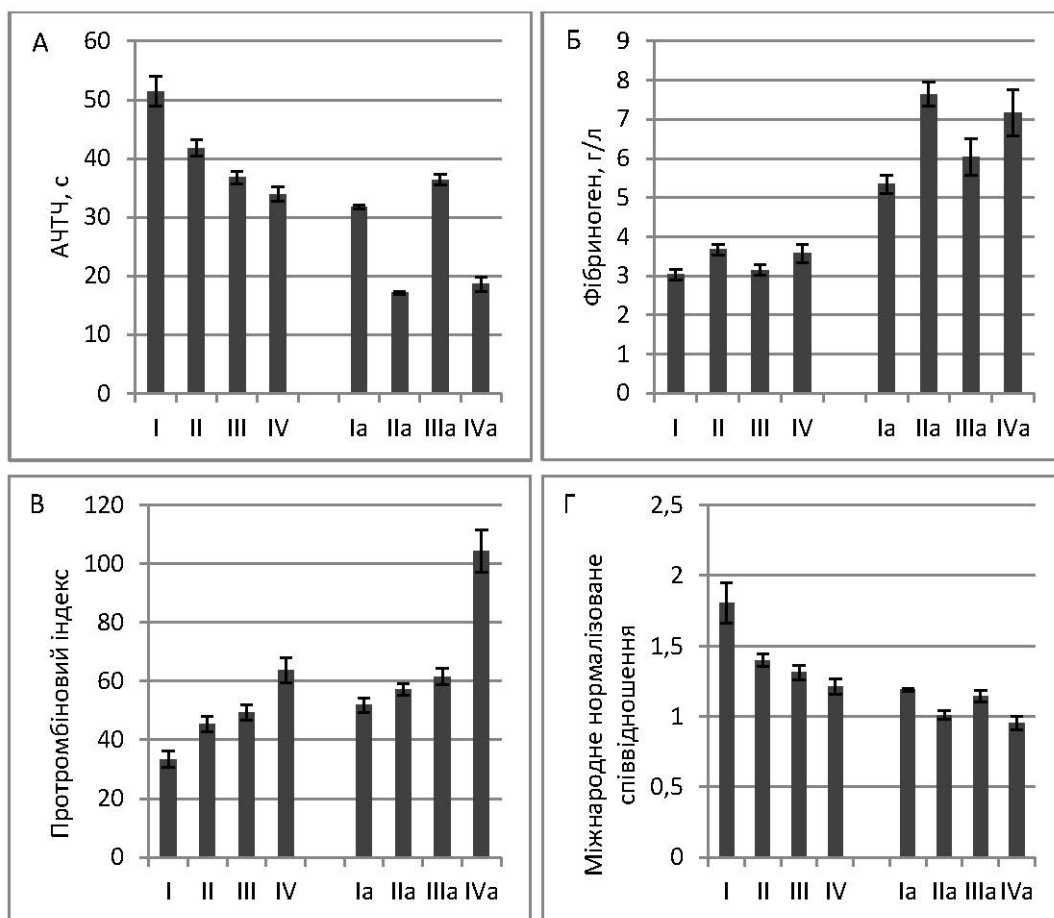


Рис. 2. Показники згортання крові в мишей лінії BALB/c з антифосфоліпідним синдромом до вагітності й на 18-й день вагітності та на фоні застосування L-аргініну й аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

досліджень продемонструвало участь аФЛ у розвитку тромбозів при системному червоному вовчаку, але досі залишається незрозумілим механізм дії цих антитіл [15].

Встановлено, що у мишей з АФС відбувалося вкорочення активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ) на 19 % відносно інтактних тварин та на 46 % на фоні вагітності (рис. 2, Б) порівняно з групою вагітних мишей без АФС, що свідчило про підвищену здатність до тромбоутворення. Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників. За даними [4], показники АЧТЧ у групах вагітних з АФС у II триместрі зменшуються порівняно з групою контролю. Однак у III триместрі спостерігають деяке подовження АЧТЧ [4]. З іншого боку, за даними [15], аФЛ викликають збільшення активованого часткового тромбопластинового часу і протромбінового часу.

Протромбін (фактор II) – вітамін К-залежний глікопротеїн, що синтезується в печінці й бере участь у згортанні крові. Він забезпечує утворення на мембрані ушкоджених клітин комплексу факторів Va, Ха і фосфоліпідів. У результаті цього за присутності іонів Ca²⁺ утворюється протромбіназний комплекс, який розщеплює протромбін до тромбіну, що в подальшому призводить до перетворення фібриногену в фібрин. Антитіла, що спричиняють виникнення вовчакового антикоагулянту (подовження часу фосфоліпідозалежних коагуляційних тестів), вимагають присутності плазмових протеїнів, β2-ГП1 або протромбіну. Припускають, що зв'язування протромбіну з фосфоліпідами клітинних мембран збільшується за наявності антитіл до протромбіну, в результаті чого інші фактори коагуляції не можуть зв'язатися з фосфоліпідами; можливо, цим і пояснюється подовження часу фосфоліпідозалежних коагуляційних тестів. Є й інша точка зору, згідно з якою протромбін при наявності антитіл перехресно реагує з плазміногеном, внаслідок чого фібриноген не може бути розщеплений до фібрину. Підвищений рівень антитіл до протромбіну, особливо в пацієнтів із системним червоним вовчаком і АФС, збільшує ризик розвитку тромбозу глибоких вен. Антитіла до протромбіну інгібують фактори коагуляції, що призводить до подовження часу фосфоліпідозалежних коагуляційних тестів. Наявність антитіл до протромбіну асоціюється з тромбоемболією легеневої артерії і передчасним перериванням вагітності [2, 3].

У групі мишей з АФС до вагітності та на 18-й день вагітності спостерігали зменшення протромбінового часу (на 21 і 14 %), підвищення протромбінового індексу (на 36 та 10 %) (рис. 2, В), зменшення міжнародного нормалізованого співвідношення (на 23 і 15 %) (рис. 2, Г) порівняно з показниками тварин контрольних груп.

Процеси гіперкоагуляції у вагітних з АФС, імовірно, пов'язані з тим, що з 24-го тижня гестації починає своє формування третє коло кровообігу, у зв'язку з чим відбувається компенсоване ушкодження судинної стінки [4].

При введенні L-аргініну у тварин з АФС встановлено зростання кількості тромбоцитів на 51 % (рис. 1), зниження концентрації фібриногену на 14 % (рис. 2, А), вкорочення АЧТЧ на 12 % (рис. 2, Б) відносно II групи тварин з АФС. Введення L-аргініну мишам з АФС на фоні вагітності супроводжувалося підвищенням кількості тромбоцитів на 11 % (рис. 1), зменшенням концентрації фібриногену на 21 % (рис. 2, А), подовженням АЧТЧ у 2,1 раза (рис. 2, Б), зростанням міжнародного нормалізованого співвідношення на 13 % (рис. 2, Г) щодо вагітних тварин з АФС.

На фоні застосування аміногуанідину спостерігали подальше вкорочення АЧТЧ на 19 % (рис. 2, Б), зменшення протромбінового часу на 12 %, зменшення міжнародного нормалізованого співвідношення на 13 % (рис. 2, Г), зростання протромбінового індексу на 40 % (рис. 2, В) відносно мишей з АФС. Введення аміногуанідину тваринам з АФС на 18-й день вагітності супроводжувалося підвищенням протромбінового індексу на 82 % (рис. 2, В) щодо вагітних мишей з АФС.

ВИСНОВКИ. Встановлено схильність до гіперкоагуляції та ризик тромбоутворення в самок з антифосфоліпідним синдромом, що є одним із провідних патогенетичних моментів невиношування вагітності при цій патології. Попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін сприяє відновленню показників гемокоагуляції та нормалізації кількості тромбоцитів за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому до вагітності та на її фоні. Введення аміногуанідину мишам з антифосфоліпідним синдромом та з антифосфоліпідним синдромом на фоні вагітності призводить до прогресування змін коагулограми, що свідчать про зростання схильності до тромбоутворення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ключкина Н. Г. Антифосфолипидный синдром: клинические аспекты / Н. Г. Ключкина // Медицина неотложных состояний. – 2007. – № 1 (8). – С. 17–21.
2. Клинико-лабораторные характеристики антифосфолипидного синдрома у женщин с отягощенным акушерским анамнезом / Ф. Т. Халимова, А. В. Гулин, Е. В. Малышева [и др.] // Вестн. ТГУ. – 2012. – 17, вып. 4. – С. 1285–1288.
3. Характеристика параметров свертывания крови при антифосфолипидном синдроме / Ф. Т. Халимова, А. В. Гулин, Е. В. Малышева [и др.] // Вестн. ТГУ. – 2012. – 17, вып. 5. – С. 1449–1451.
4. Демина Т. Н. Показатели системы гемостаза у беременных с преэклампсией на фоне приобретенной тромбофилии / Т. Н. Демина, Н. А. Фирсова // Медико-социальные проблемы семьи. – 2016. – 21, № 1. – С. 5–11.
5. Острякова Е. В. Антифосфолипидный синдром и система фибринолиза / Е. В. Острякова, Л. И. Патрушев, Т. М. Решетняк // Науч.-практ. ревматология. – 2011. – № 6. – С. 57–64.
6. Рудзевич А. Ю. Изменения гемостаза у беременных с тромбофилией, возможность профилактики осложненной беременности при приобретенной тромбофилии и антифосфолипидном синдроме / А. Ю. Рудзевич // Scientific Review. – 2019. – № 1. – С. 48–54.
7. Granakopoulos B. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome / B. Granakopoulos, S. Krilis // The New England Journal of Medicine. – 2013. – 368. – P. 1033-1044.
8. Krone K. A. Impaired fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome / K. A. Krone, K. L. Allen, K. R. McCrae // Curr. Rheumatol. Rep. – 2010. – 12 (1). – P. 53–57.
9. Иванов А. В. Нарушение системы гемостаза при беременности: клинико-диагностические аспекты / А. В. Иванов // Лаб. медицина. – 2014. – 4, № 11. – С. 60–63.
10. Імунологічні фактори в етіопатогенезі звичних викиднів / П. Мадей, Д. Пєха, Д. Плу́та [та ін.] // Львів. мед. часоп. – 2015. – № 3. – С. 89–95.
11. Макаров О. Г. Динаміка змін показників системи зсідання крові протягом вагітності у жінок з тромбофілічними станами / О. Г. Макаров // Світ медицини та біології. – 2016. – № 2 (56). – С. 40–42.
12. Морфологічний стан матки та плаценти при експериментальному моделюванні гестаційного антифосфолипідного синдрому на мишах / Г. В. Зайченко, Ю. Б. Лар'яновська, Т. В. Дєєва [та ін.] // Укр. мед. альм. – 2011. – 14, № 4. – С. 136–141.
13. Горницкая О. В. Антифосфолипидный синдром / О. В. Горницкая // Эксперим. та клініч. фізіологія та біохімія. – 2008. – № 1 (4). – С. 61–70.
14. Кондратюк А. С. Кількісне визначення фібриногену в плазмі крові турбідиметричним методом з використанням анциструну / А. С. Кондратюк, Т. В. Грищенко // Фізика живого. – 2010. – 18, № 1. – С. 160–163.
15. Вовк Т. Б. Аутоімунні антитіла до ключових компонентів системи зсідання крові, які утворюються в кровотоці при системному червоному вовчаку / Т. Б. Вовк, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко // Фізика живого. – 2010. – 18, № 3. – С. 59–63.

REFERENCES

1. Klyukvina, G.G. (2007). Antifosfolipidnyy sindrom: klinicheskiye aspekty. [Antiphospholipid syndrome: clinical aspects]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy – Emergency Medicine*, 1 (8), 17-21 [in Russian].
2. Khalimova, F.T., Gulin, A.V., Malysheva, Ye.V., & Nazirova, A.A. (2012). Kliniko-laboratornyye kharakteristiki antifosfolipidnogo sindroma u zhenshchin s otyagoshchennym akusherskim anamnezom [Clinical and laboratory characteristics of antiphospholipid syndrome in women with a burdened obstetric history]. *Vestnik TGU – TSU Bulletin*, 17 (4), 1285-1288 [in Russian].
3. Khalimova, F.T., Gulin, A.V., & Malysheva, Ye.V. (2012). Kharakteristika parametrov svertyvaniya krovi pri antifosfolipidnom syndrome [Characterization of blood coagulation parameters in antiphospholipid syndrome]. *Vestnik TGU – TSU Bulletin*, 17 (5), 1449-1451 [in Russian].
4. Demina, T.N., & Firsova, N.A (2016). Pokazateli sistemy gemostaza u beremennykh s preeklampsiyey na fone priobretennoy trombofilii [Indicators of the hemostatic system in pregnant women with preeclampsia against the background of acquired thrombophilia]. *Mediko-sotsialnyye problemy semi – Medical and Social Problems of the Family*, 21 (1), 5-11 [in Russian].
5. Ostryakova, Ye.V., Patrushev, L.I., & Reshetnyak, T.M. (2011). Antifosfolipidnyy sindrom i sistema fibrinoliza [Antiphospholipid syndrome and fibrinolysis system]. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya – Scientific and Practical Rheumatology*, 6, 57-64 [in Russian].
6. Rudzевич, A.Yu. (2019). Izmeneniya gemostaza u beremennykh s trombofiliyey, vozmozhnost profilaktiki oslozhneniy beremennosti pri priobretennoy trombofilii i antifosfolipidnom syndrome [Changes in hemostasis in pregnant women with thrombophilia, the possibility of preventing pregnancy complications with acquired thrombophilia and antiphospholipid syndrome]. *Scientific Review*, 1, 48–54. [in Russian].
7. Granakopoulos, B., & Krilis, S. (2013). The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 368, 1033–1044.
8. Krone, K.A., Allen, K.L., & McCrae, K.R. (2010). Impaired fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 12 (1), 53-57.
9. Ivanov, A.V. (2014). Narusheniye sistemy gemostaza pri beremennosti: kliniko-diagnosticheskiye aspekty [Violation of the hemostatic system during pregnancy: clinical and diagnostic aspects]. *Laboratornaya meditsina – Laboratory Medicine*, 4 (11), 60-63 [in Russian].
10. Madei, P., Piekha, D., & Pluta, D. (2015). Imunologichni faktory v etiopatogenezi zvychnykh vykydnykh [Immunological factors in the etiopathogenesis of habitual miscarriages]. *Lvivskyi medychnyi chasopys – Lviv Medical Journal*, 3, 89-95 [in Ukrainian].

11. Makarov, O.H. (2016). Dynamika zmin pokaznykiv systemy zsidannia krovii protiahom vahitnosti u zhinok z trombofilichnymy stanamy [Dynamics of changes in blood clotting during pregnancy in women with thrombophilic conditions]. *Svit medytsyny ta biolohii – World of Medicine and Biology*, 2 (56), 40-42 [in Ukrainian].

12. Zaichenko, H.V., Larianovska, Iu.B., & Deieva, T.V. (2011). Morfolohichni stan matky ta platsenty pry eksperymentalnomu modeliuvanni hestatsiinoho antyfosfolipidnoho syndromu na myshakh [Morphological state of the uterus and placenta in experimental modeling of gestational antiphospholipid syndrome in mice]. *Ukrainskyi medychnyi almanakh – Ukrainian Medical Almanac*, 14 (4), 136-141 [in Ukrainian].

13. Hornytskaya, O.V. (2008). Antyfosfolipidnyy sindrom [Antiphospholipid syndrome]. *Eksperymentalna ta klinichna fiziologhiia ta biokhimiia – Experimental and*

Clinical Physiology and Biochemistry, 1 (4), 61-70 [in Russian].

14. Kondratiuk, A.S., & Hrynenko, T.V. (2010). Kilkisne vyznachennia fibrynohenu v plazmi krovii turbidymetrychnym metodom z vykorystanniam antystronu [Quantification of fibrinogen in blood plasma by turbidimetric method using ancistrone]. *Fizyka zhyvoho – Physics of the Living*, 18 (1), 160-163 [in Ukrainian].

15. Vovk, T.B., Savchuk, O.M., & Ostapchenko, L.I. (2010). Autoimunny antytila do kliuchovykh komponentiv systemy zsidannia krovii, yaki utvoriuiutsia v krovototsi pry systemnomu chervonomu vovchaku [Autoimmune antibodies to key components of the blood coagulation system that are formed in the bloodstream in systemic lupus erythematosus]. *Fizyka zhyvoho – Physics of the Living*, 18 (3), 59-63 [in Ukrainian].

О. З. Яремчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
МОЗ УКРАИНЫ

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

Резюме

Вступление. Антифосфолипидный синдром (АФС) – это аутоиммунное заболевание, характеризующееся артериальными и венозными тромбозами, тромбоцитопенией. Он является причиной невынашивания беременности в 27–42 % случаев.

Цель исследования – оценить влияние L-аргинина и аминоксидина на показатели системы свертывания крови и уровень тромбоцитов в условиях экспериментального антифосфолипидного синдрома до беременности и на ее фоне.

Методы исследования. Антифосфолипидный синдром моделировали на мышах-самках линии BALB/c. Для коррекции использовали L-аргинин (25 мг/кг) и аминоксидин (10 мг/кг). Исследовали количество тромбоцитов, концентрацию фибриногена и показатели коагулограммы.

Результаты и обсуждение. В результате выполненных исследований у животных с АФС до беременности и на 18-й день беременности установлено снижение количества тромбоцитов, повышение концентрации фибриногена, укорочение активированного частичного тромбопластинового времени и протромбинового времени, увеличение протромбинового индекса и уменьшение международного нормализованного соотношения относительно показателей контрольных групп. На фоне введения L-аргинина у мышей с АФС до беременности и на 18-й день беременности отмечено возрастание количества тромбоцитов и снижение концентрации фибриногена по сравнению с животными с АФС. Одновременно у животных с АФС установлено дальнейшее укорочение активированного частичного тромбопластинового времени, а у беременных мышей с АФС наблюдали его удлинение и увеличение международного нормализованного соотношения. При введении аминоксидина у животных с АФС отмечено дальнейшее укорочение активированного частичного тромбопластинового времени, уменьшение протромбинового времени и международного нормализованного соотношения относительно интактных животных. У мышей с АФС до беременности и на ее фоне наблюдали возрастание протромбинового индекса при введении аминоксидина.

Выводы. Установлено склонность к гиперкоагуляции и риск тромбообразования у самок с антифосфолипидным синдромом, который является одним из главных патобиохимических аспектов невынашивания беременности при этой патологии. L-аргинин способствует восстановлению показателей гемостаза и нормализации количества тромбоцитов, а аминоксидин у мышей с антифосфолипидным синдромом и с антифосфолипидным синдромом на фоне беременности приводит к прогрессированию изменений коагулограммы, что свидетельствует о возрастании склонности к тромбообразованию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антифосфолипидный синдром; беременность; оксид азота; гемостаз.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

EFFECT OF MODULATORS OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS ON HEMOSTASIS INDICATORS IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Summary

Introduction. Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease characterized by arterial and venous thrombosis, thrombocytopenia. APS causes habitual miscarriage in 27–42 % of cases.

The aim of the study – to evaluate the effect of L-arginine and aminoguanidine on the blood clotting system and platelet level in experimental antiphospholipid syndrome before and in pregnancy.

Research Methods. The APS was modeled on BALB/c female mice. L-arginine (25 mg/kg) and aminoguanidine (10 mg/kg) were used for its correction. Platelet counts, fibrinogen concentration and coagulation rates were determined.

Results and Discussion. According to the research results, a decrease in platelet count, an increase in fibrinogen concentration, a shortening of activated partial thromboplastin time (aPTT), a reduction in prothrombin time, an increase of prothrombin correlation index was established in the animals with APS before pregnancy and on the 18th day of pregnancy compare to the control groups. With introduction of L-arginine into the mice with APS before pregnancy and on the 18th day of pregnancy an increase in platelet counts and a decrease in fibrinogen concentration were evidenced relative to the animals with APS. At the same time, in the APS animals the aPTT was further shortened; the pregnant APS mice experienced prolonged aPTT and increased international normalized ratios. With introduction of aminoguanidine into the APS mice, a further shortening of aPTT, a decrease in prothrombin time and international normalized ratio relative to the intact animals were proved. The increase of prothrombin index with introduction of aminoguanidine into the animals with APS before pregnancy and during pregnancy was established.

Conclusions. The tendency to hypercoagulation and the risk of thrombosis in females with APS have been established. It is one of the leading pathobiochemical aspects of pregnancy miscarriage in this disorder. L-arginine contributes to normal hemocoagulation and regulation of platelet counts; aminoguanidine leads to a worsening of the studied parameters of the coagulogram in APS before and during pregnancy.

KEY WORDS: antiphospholipid syndrome; pregnancy; nitric oxide; hemostasis.

Отримано 17.01.20

Адреса для листування: О. З. Яремчук, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: yaremchuk@tdmu.edu.ua.