

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

АМОСОВА АЛЬОНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 616-002.5-06:616.151.5]-097:575.174.015.3

РОЛЬ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ, ЩО КОНТРОЛЮЮТЬ
СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗУ, В ПОРУШЕННІ ЇЇ ФУНКЦІЇ ПРИ
ТУБЕРКУЛЬОЗНОМУ ПРОЦЕСІ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник

Бажора Юрій Іванович

доктор медичних наук, професор

ОДЕСА – 2014

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ДАНИХ ЩОДО АСОЦІАЦІЇ ПОРУШЕНЬ В СИСТЕМІ ГЕМОСТАЗУ З ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ.....	15
1.1. Патофізіологічні особливості функціонування системи гемостазу при туберкульозному процесі.....	15
1.2. Сучасні уявлення про поліморфізм генів системи гемостазу.....	22
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	28
2.1. Загальна характеристика обстежених груп.....	28
2.2. Лабораторні (біохімічні) методи дослідження.....	30
2.3. Дослідження стану системи гемостазу методом НПГК.....	34
2.4. Біофізичні методи дослідження (ЛКС).....	38
2.5. Молекулярно-генетичні методи дослідження.....	40
2.6. Методи статистичного аналізу.....	43
РОЗДІЛ 3. ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ.....	44
3.1. Аналіз змін показників ситеми гемостазу в досліджуваних групах...44	
3.2.Особливості показників системи гемостазу в залежності від патофізіологічних особливостей перебігу туберкульозного процесу.....	61
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ МЕТОДОМ НИЗЬКОЧАСТОТНОЇ ВІБРАЦІЙНОЇ П'ЄЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ГЕМОКОАГУЛОГРАФІЇ	81
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ГОМЕОСТАЗУ	

МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ	88
5.1. Характер змін ЛК-спектрів плазми крові в обстежених групах.....	88
5.2. Особливості спрямованості ЛК-спектрів в залежності від патофізіологічних особливостей перебігу туберкульозного процесу	98
5.3. Спрямованість метаболічних зсувів у хворих на туберкульоз в залежності від характеру змін показників системи гемостазу.....	107
РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ГЕННИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ В ПОРУШЕННІ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ.....	114
6.1. Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень поліморфізму гена <i>SERPINE1</i> , <i>4G/5G</i> в обстежених групах.....	114
6.2. Вплив поліморфізму гену <i>SERPINE1</i> , <i>4G/5G</i> на зміни коагулогічних показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз.....	121
6.3. Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень поліморфізму гена фактору XIII, A1 субодиниці, <i>F13A1</i> , <i>Val/Leu</i> в обстежених групах.....	124
6.4. Вплив поліморфізму гену <i>F13A1</i> , <i>Val/Leu</i> на зміни коагулогічних показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз.....	129
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	133
ВИСНОВКИ.....	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	147

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- F13A1 – фактор XIII A субодиниця
OR – відношення шансів (odds ratio)
RR – відносний ризик (rates ratio)
t1 – час контактної фази коагуляції
t4 – час полімеризації згустку
A0 – початковий показник агрегатного стану крові в момент часу t_0 .
A1 – амплітуда контактної фази коагуляції
A4 – амплітуда полімеризації згустку
AT – агрегація тромбоцитів
АЧТЧ – активований частковий тромбопластиновий час
ВДТБ – вперше діагностований туберкульоз
ВЗК – внутрішньосудинне згортання крові
ГВТ – гіперчутливість вповільненого типу
ДВЗ – дисеміноване внутрішньосудинне згортання
Дестр – деструкція
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ІАП – інгібітор активатору плазміногену
ІКД – інтенсивність коагуляційного драйву
ІКК – інтенсивність контактної фази коагуляції
ІПЗ – інтенсивність полімеризації згортка
ІРЛЗ – інтенсивність ретракції та лізису згортка
ІТБ – інший туберкульоз
ІТЗ – інтенсивність тотального згортання крові
Кат – категорія
КТА – константа тромбінової активності

ЛКС – лазерна кореляційна спектроскопія
МА – максимальна амплітуда
МБТ – мікобактерії туберкульозу
МРТБ – мультирезистентний туберкульоз
НЛТБ – невдача лікування туберкульозу
НППК – низькочастотна вібраційна п'єзоелектрична гемокоагулографія
ООКПТЛ - Одеська обласна клінічна протитуберкульозна лікарня
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
ПТП – протитуберкульозний препарат
ПЧ – протромбіновий час
РАСК – регулювання агрегатного стану крові
РКЗ – ретракція кров'яного згустку
РМРТБ – ризик мультирезистентного туберкульозу
РРТБ – туберкульоз із розширеною резистентністю
РТБ – рецидив туберкульозу
Т – час формування фібрин - тромбоцитарної структури згортка
ТБ – туберкульоз
ТГС – тромбогеморагічний синдром
ТЧ – тромбіновий час
ФАК – фібринолітична активність крові
ФСФ – фібринстабілізуючий фактор
ХТБ – хронічний туберкульоз, туберкульоз з тривалим анамнезом лікування
ЧРП – час рекальцифікації плазми крові

ВСТУП

Однією з основних глобальних проблем охорони здоров'я все ще залишається туберкульоз. За результатами доповіді Всесвітньої організації охорони здоров'я «Про глобальну боротьбу с туберкульозом» 2013, кількість летальних наслідків туберкульозу неприпустимо велика та складає 1,3 млн. чоловік з офіційно зареєстрованих 8,6 млн. випадків. Найбільшу небезпеку викликає зростаюча кількість інфікованих мультирезистентним туберкульозом (МРТБ). Україна посідає третє місце після Індії та Південної Африки за кількістю зростання хворих на МРТБ у період 2011 – 2012 рр. [1-9]. В Одеській області за перше півріччя 2013 р. захворюваність становила 46,2 на 100 тис. населення, що на 0,4% більше, ніж у 2012 р. і посідає третє місце після Херсонської та Дніпропетровської областей [10-12]. Вивчення патогенетичних особливостей розвитку захворювання та запобігання розвитку ускладнень є вкрай необхідним.

Актуальність теми: Патогенетичні механізми змін стану системи гемостазу у хворих на туберкульоз недостатньо вивчені. Більшість авторів єдині в думці, що під час захворювання у хворих на туберкульоз розвивається коагуляційний зсув. Проте немає єдиної думки щодо характеру змін стану фібринолітичної системи крові: одні автори вважають, що відбувається її стимуляція, інші – що пригнічення [13,14]. Достовірно не вивчені основні причини виникнення вказаних порушень у хворих на туберкульоз, особливості перебігу та наслідки захворювання з урахуванням стану системи гемостазу. Існують дослідження, що свідчать про асоціацію гемостатичних порушень, а саме фібринолітичної ланки, з хронізацією туберкульозного процесу.

Неоднозначним є питання щодо характеру впливу гіперкоагуляції на перебіг туберкульозного процесу. Вважають, що вона може виступати в ролі захисного чинника при туберкульозній інфекції. Тому, можливо, своєчасна,

цілеспрямована з урахуванням патогенетичних особливостей корекція гемостатичних порушень може полегшити перебіг та наслідки захворювання, прискорити реабілітаційний період.

Багатофакторний патогенез та варіабельність прояву клінічних форм перебігу захворювання дозволяє припустити вплив поліморфних варіантів генів [15-17]. Дослідження впливу генного поліморфізму на стан гемостатичної системи у хворих на туберкульоз легенів є актуальним. Розповсюдженість генетичних поліморфізмів (так само як і фенотипічних особливостей) різниться в залежності від географічної локалізації, етнічної приналежності, впливу факторів зовнішнього середовища тощо певних індивидумів. Тому доцільним є визначення вказаних особливостей серед мешканців різних Одеського регіону. Актуальною та новою є перспектива встановлення асоціативних зв'язків між станом системи гемостазу та патогенетичними особливостями розвитку, перебігу, наслідків туберкульозу в залежності від генетичних особливостей пацієнтів; визначення доцільності використання генетичного тестування хворих для прогнозування змін стану системи гемостазу та розробка предикторів фармакотерапії гемостатичних порушень.

В ході дослідження був застосований новий більш чутливий, економічний, високоточний, інформативний, легко інтерпретуємий метод діагностики експрес-оцінки стану системи гемостазу у порівнянні зі стандартною коагулограмою – метод низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемокоагулографії (НПГК) у хворих на туберкульоз. Результати дослідження підтвердили доцільність використання цього методу у хворих. Метод НПГК дозволив виявити порушення судинно-тромбоцитарної, коагуляційної й фібринолітичної ланок системи гемостазу раніше та у більшому обсязі ніж стандартна коагулограма.

Аналіз змін гемостатичної системи на фенотипному рівні може бути оцінений за допомогою методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС). ЛКС дозволяє аналізувати стан гомеостазу внутрішньої середовища організму у

хворих на туберкульоз з порушеннями стану системи гемостазу по співвідношенню різних біологічних часточок плазми крові в нанометровому діапазоні. Характер відхилень співвідношення таких часточок різний в залежності від етіологічного фактору захворювання, патогенетичних механізмів та тяжкості перебігу захворювання. Визначення особливостей ЛК-спектрів надає можливість оцінити стан системного гомеостазу у хворих на туберкульоз легенів з наявними порушеннями стану системи гемостазу для безпосереднього контролю процесу лікування, запобіганню виникнення ускладнень та прогнозування результату захворювання.

Таким чином, визначення патогенетичних особливостей розвитку порушень стану системи гемостазу хворих на туберкульоз легенів в залежності від генотипу є актуальним та до кінця не вирішеним питанням, розв'язання якого дозволить у майбутньому покращити лікування та запобігти розвитку гемостатичних ускладнень у хворих на туберкульоз.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних держбюджетних НДР МОЗ України, які виконуються на кафедрі клінічної імунології, генетики та медичної біології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ): «Імуногенетичні, епідеміологічні, фармакогенетичні та клініко-мікробіологічні аспекти взаємовідносин у системі «паразит-хазяїн» при туберкульозній інфекції в умовах зростання захворюваності на туберкульоз» (№ держреєстрації 0104U010501); «Значення поліморфізму деяких генів схильності до захворювання на туберкульоз в перебігу хвороби та ефективності її лікування» (№ держреєстрації 0110U006662); «Розробка критеріїв ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз і гепатити різної етіології на підставі фармакогенетичних досліджень» (№ держреєстрації 0113U001634). Дисертант є співвиконавцем тем.

Мета дослідження: Метою роботи було з'ясування впливу поліморфних варіантів генів *SERPINE1*, (4G/5G) і *F13A1*, (Val/Leu) на патогенетичні

механізми порушень в системі гемостазу при туберкульозній інфекції та особливості перебігу туберкульозного процесу.

Для досягнення зазначеної мети розв'язувалися такі *завдання*:

1. Визначити особливості деяких показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз легенів мешканців Одеського регіону.

2. Встановити патогенетичний взаємозв'язок між порушеннями в системі гемостазу й особливостями перебігу туберкульозного процесу.

3. Визначити розповсюдженість поліморфних варіантів генів системи гемостазу *SERPINE1*, (4G/5G) і *F13A1*, (Val/Leu) у мешканців Одеського регіону.

4. Дослідити розповсюдженість генних поліморфізмів у хворих на туберкульоз легенів мешканців даного регіону.

5. Встановити асоціацію між порушеннями в системі гемостазу та поліморфізмом досліджуваних генів у групі хворих на туберкульоз.

6. За даними біофізичних та біохімічних досліджень визначити особливості показників системи гемостазу при туберкульозній інфекції у хворих, що відрізняються за певними генотипами.

Об'єкт дослідження — патогенез порушень системи гемостазу у хворих на туберкульозну інфекцію.

Предмет дослідження — особливості показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз та характер його перебігу на тлі поліморфізму генів системи гемостазу (*SERPINE1*, (4G/5G) і *F13A1*, (Val/Leu)) у хворих Одеського регіону.

Методи дослідження: загальноклінічні, біохімічні, біофізичні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Загальноклінічні методи включали вивчення скарг, анамнезу захворювання, даних об'єктивного огляду, аналізу крові, загального аналізу сечі. Біохімічні методи: коагулограма за стандартними методиками.

Біофізичні методи включали визначення хронометричних і амплітудних

констант агрегатного стану крові, гемокоагуляції та фібринолізу методом низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемокоагулографії та визначення макромолекулярного складу плазми крові методом лазерної кореляційної спектроскопії у хворих на туберкульоз.

Молекулярно-генетичні методи включали виділення ДНК, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) з подальшою ендонуклеазною рестрикцією та електрофорезом продуктів ампліфікації для визначення наявності певних генних поліморфізмів.

Статистичні методи включали визначення середнього значення (M), стандартної помилки середнього арифметичного (m), критерія Пірсона (χ^2) відносного ризику (RR) та відношення шансів (OR) за допомогою пакета програм «Statistica 6» та Microsoft Excel – 2003. Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (p) приймався таким, що дорівнює 0,05.

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що активація згортальної системи крові у хворих пов'язана з позитивним результатом бактеріологічного дослідження на наявність мікобактерій та відсутністю деструктивних процесів легеневої тканини й резистентності мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів.

Вперше було визначено стан системи гемостазу у хворих на туберкульоз за допомогою нового експрес-методу низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемокоагулографії, що дозволив виявити зміни гемостатичної системи на початковому етапі захворювання з відображенням кінетики змін системи в цілому.

За допомогою лазерної кореляційної спектроскопії показано, що у хворих на тлі гемостатичних порушень відбувається збільшення внеску в світлорозсіювання частинок з гідродинамічним радіусом від 12 до 38 нм та зниження внеску частинок від 39 до 95 нм. Виявлено, що через два місяці після початку курсу хіміотерапевтичного лікування у хворих відбувається суттєве збільшення внеску в світлорозсіювання рівня великомолекулярних частинок від

39 до 264 нм.

Вперше визначена частота розповсюдженості поліморфних варіантів генів *SERPINE1*, *4G/5G* і *F13A1*, *Val/Leu* серед здорових і хворих на туберкульоз мешканців Одеського регіону. Встановлено характер впливу генних поліморфізмів на зміни показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз, що дозволило розширити уявлення про особливості патогенезу гемостатичних порушень.

Знайдена асоціація розподілу генотипів з віком хворих, характером бактеріовиділення й наявністю/відсутністю деструктивних процесів в легенях. Показано, що поліморфний варіант гена «дикого типу» (*SERPINE1*, *5G/5G*) менш за все зустрічався у хворих на вперше діагностований туберкульоз, що може свідчити про більш виражений несприятливий перебіг вказаного типу випадку туберкульозного процесу.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій. Робота виконана на достатній кількості зразків крові, отриманих від хворих на туберкульоз легень. Основні положення та висновки дисертації підтверджуються статистично достовірними результатами досліджень. Висновки роботи обґрунтовані та логічно витікають з результатів досліджень. Достовірність основних положень і висновків, викладених у дисертації, підтверджується наявністю первинної документації (протоколи досліджень; виписки з історій хвороб пацієнтів на легеневий туберкульоз; журнал реєстрації молекулярно-генетичних досліджень). Отримані результати ретельно проаналізовані і приведені у достатній кількості таблиць, текст викладений стилістично правильно, з дотриманням логічних зв'язків. Математична обробка отриманих результатів проведена з використанням сучасних статистичних методів оцінки. Результати дослідження проаналізовані з використанням даних вітчизняної та зарубіжної літератури. Кількісні виміри отримані на апаратурі, що пройшла державний метрологічний контроль. Матеріали, що представлені в дисертації, відповідають звітам і первинній

документації планових держбюджетних НДР МОЗ України на кафедрі клінічної імунології, генетики та медичної біології ОНМедУ.

Наукове значення роботи. Отримані дані розширили існуючі уявлення про патогенетичні особливості туберкульозного процесу, що обумовлені певними генетичними особливостями організму хазяїна. Вони створюють теоретичну основу для створення обґрунтованих засобів прогнозування перебігу туберкульозу легень, оптимізації лікування та зниження ризику виникнення несприятливих наслідків захворювання.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження можуть бути використані для удосконалення лікування, безпосереднього контролю та завчасної профілактики розвитку несприятливих наслідків туберкульозу, оскільки дозволять своєчасно визначити групу хворих зі спадковою схильністю до розвитку гемостатичних ускладнень. Результати дослідження дозволять використовувати поліморфізм генів, що контролюють систему гемостазу, для групування хворих на туберкульоз за типом та ступенем прояву патофізіологічних змін з боку гемостатичних показників. Визначення розподілу частот поліморфних варіантів цих генів дозволить використовувати їх при асоціативному аналізі ризику розвитку й перебігу гемостатичних ускладнень при туберкульозній інфекції та інших захворюваннях, для яких був описаний генетичний поліморфізм даних генів.

Визначені особливості дозволять розробити один з можливих критеріїв для завчасної профілактики виникнення гемостатичних ускладнень та запровадити генетичне тестування у хворих на туберкульоз.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах фтизіопульмонології, загальної та клінічної патологічної фізіології, клінічної імунології, генетики та медичної біології ОНМедУ МОЗ України; у відділеннях Одеської обласної протитуберкульозної лікарні з відділенням для інвалідів Великої Вітчизняної війни; у Державній установі «Інститут спадкової патології НАМН України» (м. Львів).

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, визначено мету і задачі дослідження, методичні підходи, проведені молекулярно-генетичні та біофізичні дослідження. Проведено статистичну обробку отриманих результатів, їх угруповання та оформлення у вигляді таблиць і рисунків. Проведено аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки роботи, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, визначено мету і завдання дослідження, методичні підходи, проведені молекулярно-генетичні та біофізичні дослідження. Виконано статистичну обробку отриманих результатів, їх групування та оформлення у вигляді таблиць і рисунків. Проведено аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки роботи, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи були представлені й одержали позитивну оцінку на науково-практичних конференціях: VII міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток наукових досліджень 2011» (Полтава, 2011); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 165-річчю з дня народження В. В. Підвисоцького «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для молодих вчених та студентів)» (Одеса, 2012); VIII міжнародній науково-практичній конференції «Наукові дослідження – теорія та експеримент 2012» (Полтава, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Медико-соціальні проблеми туберкульозу в Україні» (Київ, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю з дня народження К.Д. Двужильної «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для молодих вчених та студентів)» (Одеса, 2013); IX міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток наукових досліджень

2013» (Полтава, 2013); науково-практичній конференції молодих вчених «Медицина XXI століття», присвяченій 90-річчю ХМАПО (Харків, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них: 4 наукові статті — в профільних журналах, рекомендованих МОН України, 3 статті — в іноземних виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз, 7 тез доповідей на конференціях, з'їздах та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 146 сторінках комп'ютерного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків та списку літературних джерел, з яких 113 викладені кирилицею і 73 — латиницею. Робота містить 46 таблиць і 19 рисунків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ДАНИХ ЩОДО АСОЦІАЦІЇ ПОРУШЕНЬ В СИСТЕМІ ГЕМОСТАЗУ З ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

1.1. Патофізіологічні особливості функціонування системи гемостазу при туберкульозному процесі

Згідно з даними ВООЗ, від туберкульозу гине більше чоловік, ніж від будь-якого іншого інфекційного захворювання в світі. Туберкульоз є причиною більшої кількості летальних наслідків, ніж СНІД та малярія разом. Гарячими точками нарівні з країнами Південно-Східної Азії (34% інфікованих від загальносвітового) та Африки (29% інфікованих) все ще залишаються країни Східної Європи (6%). Кожну мить одна людина в світі заражається туберкульозом. У найбільш епідемічних по туберкульозу регіонах світу (Африка та Південно-Східна Азія) рівень смертності продовжує зростати. Порівняно з іншими епідемічними захворюваннями, кількість хворих на туберкульоз займає лідируючі позиції й складає 74.0 та 31.0 чоловік на 100000 населення. [1-9]

В Україні цей показник досяг відмітки 30.0 чоловік у 2010 році за даними МОЗ України. Щодалі епідеміологічна ситуація в країні погіршується. Кількість хворих, які знаходяться на диспансерному обліку перевищила 1%. Щороку більше 30 тис. українців захворюють на туберкульоз та більше 8 тис. вмирають. [10-12]

У літературі останніх десятиліть зустрічаються різні дані про роль системи гемостазу в реакціях клітинного та гуморального імунітету, однак, всі автори єдині в думці, що тромбоцитам належить вагома роль у здійсненні

імунологічних реакцій як в нормі, так і при патології [14-17].

Будь-яка зміна імунного статусу організму неодмінно відбивається на функціональній активності тромбоцитів. Так, встановлено, що створені імунні комплекси нерідко призводять до тромбозів навіть за наявності інтактної системи комплементу в результаті тканинного пошкодження, запалення, а також стимуляції тромбоцитів через мембранні рецептори [14,18,19].

Роль тромбоцитів у запаленні була досить добре вивчена. Ще в другій половині минулого сторіччя (1967 р.) J.F. Mustard з колегами показали, що при агрегації тромбоцитів виділяється фактор, що підвищує проникність судинної стінки. Відомо, що на перебіг запальних реакцій впливають серотонін та ферменти, що знаходяться в лізосомах тромбоцитів (катепсин, еластаза та ін), а також простагландини [20].

Чимало робіт також свідчать про залучення тромбоцитів в реакції неспецифічної резистентності організму шляхом тромбоцитарного фагоцитозу бактерій і вірусів, а також за рахунок дії гуморальних факторів тромбоцитів, що за своїми властивостями нагадує лізоцим [21,22].

Звільнення серотоніну і гістаміну, факторів 3 і 4 тромбоцитів в плазму призводить до прискорення згортання крові при взаємодії з імунними комплексами і може бути однією з причин розвитку тромбозів і тромбогеморагічного синдрому [23-25].

Тромбоцити є унікальними ефекторними клітинами захисних процесів організму. Їх функції полягають не тільки в забезпеченні первинної реакції зупинки кровотечі судинно-тромбоцитарного гемостазу (формування тромбоцитарного агрегату, надання своєї поверхні для прискорення реакцій плазмового гемостазу), але й в загоєнні й регенерації ушкоджених тканин. Тромбоцити містять фактори росту, що запускають каскад регенераційних реакцій (стимулюють поділ фібробластів та гладких м'язових судин – PDGF – Platelet Derived Growth Factor) та імуногенезу (TGF- β – Trombocyte Growth Factor) [26,27].

Під час контакту тромбоцитів з бактеріями відбуваються агрегація та реакція вивільнення тромбоцитів. В гранулах тромбоцитів міститься катіонний білок, що має антимікробну активність – β -лізин. Його антибактеріальна дія зумовлена здатністю пригнічувати ферменти антиокислювального захисту – пероксидазу й каталазу, в результаті чого відбувається накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів, що є токсичним для клітини. β -лізин також має фагоцитстимулюючу та опсонізуючу активність, вносячи свій вклад в елімінацію мікобактерій в організмі хазяїна [26, 28,29].

Враховуючи особливості патогенезу туберкульозного процесу, тромбоцити є пусковою й сполучною ланкою активації коагуляційного каскада, який відіграє важливу роль в забезпеченні гемостазу крові [27,30-33].

В результаті ініціації зовнішнього (судинно-тромбоцитарного) і/або внутрішнього (плазмового) шляхів згортання крові відбувається активація фактору Ха, який за участю фактору Va та іонів Ca^{2+} формує протромбіназний комплекс, що перетворює протромбін в тромбін шляхом обмеженого протеолізу. За участю тромбіну відбувається перетворення фібриногену в фібрин, а точніше мономери фібрину, зшивання яких відбувається фібрин стабілізуючим фактором XIIIa. В результаті чого утворюються стабільні фібрин-полімерні комплекси.

Активація коагуляційного каскаду урівноважується протизгортальною системою та спричинює активацію фібринолітичної (плазмінової системи). Плазмін утворюється шляхом ензиматичних реакцій з плазміногену. Активація плазміногену здійснюється протеїназами різних тканин (урокіназою, тканьовим активатором плазміногену). Протеолітична активність активаторів плазміногену регулюється специфічними інгібіторами, а саме інгібіторами активаторів плазміногену 1 та 2 типів. Фібринолітична активність крові визначається балансом між активаторами та інгібіторами фібринолізу. При зрушенні цього балансу (активація згортання і/або пригнічення фібринолізу) виникають умови, сприятливі для розвитку тромботичних станів [26,34].

Таким чином, до теперішнього часу накопичено безліч даних, які доводять той факт, що система гемостазу (зокрема тромбоцити) має вплив на імуногенез і неспецифічну резистентність організму, яка однією з перших розпочинає каскад захисних реакцій організму хазяїна при інфікуванні мікобактеріями. Цей висновок підкріплюється тим, що простагландини та лейкотрієни, синтезовані тромбоцитами, здатні модулювати імунну відповідь на різні антигени [29,35,36].

При вивченні впливу імуногенезу на систему гемостазу, було виявлено, що в лейкоцитах міститься прокоагулянт, якому притаманні властивості фактора 3 тромбоцитів, який бере участь у ендogenousному формуванні протромбінази. Крім того, в них знаходяться аналоги плазмових факторів згортання крові, антикоагулянти, стимулятори та інгібітори фібринолізу. При ряді патологічних станів, зокрема, інфекційних захворюваннях (до яких належить туберкульоз), лейкоцити інтенсивно секретують прокоагулянти і тим самим сприяють розвитку прокоагуляційного зрушення, що згодом може перетворитись на тромбогеморрагічний синдром.

Безумовно, паралельний перебіг реакцій, спрямованих на стимуляцію імуногенезу і гемостазу, є доцільним. При руйнуванні тканин, як і при запаленні, в осередку ушкодження завжди з'являється тромбін, стимулюючий лімфоцити і активізуючий згортання крові. Все це сприяє обмеженню патологічного процесу, упереджує поширення інфекції і призводить до швидкої зупинки кровотечі. Посилення ж фібринолізу, виражений вплив на який здатні створювати лімфоцити, повинно перешкоджати інтенсивному внутрішньосудинному згортанню крові.

Слід зазначити, що мононуклеарні фагоцити здійснюють прокоагулянтний вплив на процес згортання крові і судинно-тромбоцитарний гемостаз має [14,20,37].

Таким чином, при аналізі даних різних джерел літератури останніх десятиліть про взаємозв'язок системи гемостазу з імуногенезом та

неспецифічною резистентністю організму, слід зазначити, що характер даного процесу має обоюсторонню спрямованість: активація гемостатичної системи каскадною реакцією впливає на систему імуногенезу і неспецифічної резистентності організму, і, навпаки, активація імунної системи – веде до змін в системі гемостазу. Характер цих взаємин проявляється у взаємозворотніх процесах посилення-гальмування реакцій клітинного та гуморального імунітету системою гемостазу та реакцій системи гемостазу імунною системою.

Активація імуногенезу та неспецифічної резистентності організму реалізують свою дію шляхом активації, синтезу та звільнення з імунних клітин прокоагулянтних факторів, які, в свою чергу, активують судинно-тромбоцитарну й коагуляційну ланки гемостазу. Зрушення в функціонуванні системи гемостазу проявляється, в свою чергу, в активації, синтезі та звільненні з тромбоцитів факторів-медіаторів запалення, каскадній дії коагуляційних факторів, що збільшують кількість імунних клітин, що також супроводжується підвищенням згортання крові. Активація згортання крові опосередковано обумовлює активацію фібринолізу, протизгортальної та антифібринолітичної систем. Дані процеси схематично відображені на рис. 1.1.

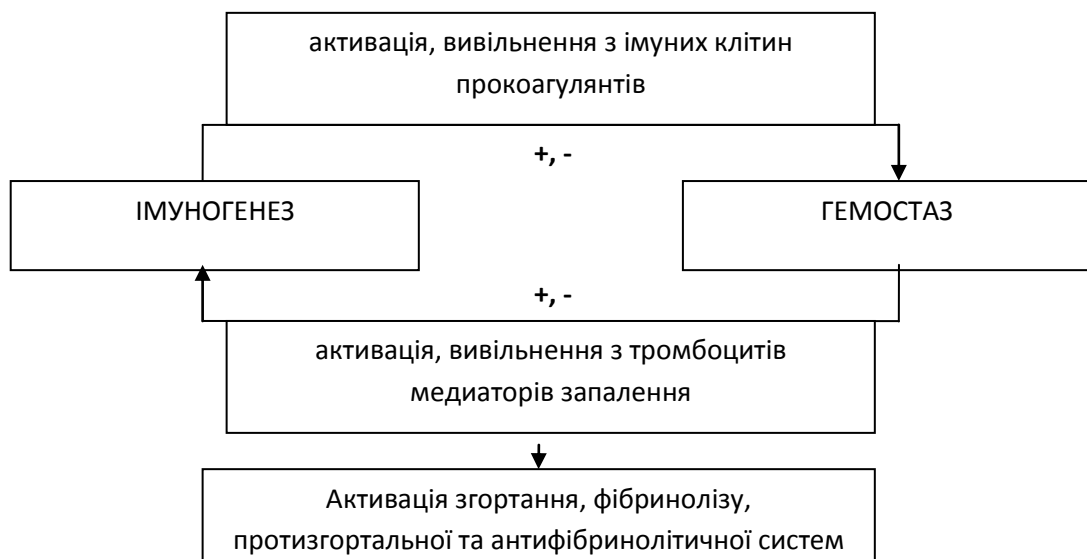


Рис.1.1. Схема взаємодії гемостазу та імуногенезу.

Вказана тенденція спостерігається і при туберкульозному процесі. За даними багатьох авторів, туберкульозна інфекція супроводжує комплексом явищ, що створюють передумови для порушення функціонування системи гемостазу [14,20,38-42]. Спрямованість дії всіх цих змін носить прокоагулянтний характер і призводить до частого розвитку у хворих на туберкульоз латентно перебігаючого синдрому внутрішньосудинного згортання (ВЗК). Виникнення ВЗК створює негативний вплив на стан хворих, ускладнює перебіг захворювання, обумовлюючи порушення мікроциркуляції і легеневого газообміну, утруднюючи доставку ліків до осередку ураження і створюючи згодом небезпеку тромбоемболічних ускладнень. Разом з тим, надмірна і тривала активація згортальної системи крові приводить до активації протизгортальної системи, що може привести до протилежного стану (гіпокоагуляція) в результаті функціонального виснаження та некомпенсованого споживання згортальних факторів або активації фібринолізу. Такий стан загрожує небезпекою розвитку як тромботичних, так і геморагічних ускладнень [40, 43-46].

Туберкульозний процес – це захворювання, що перебігає з яскраво-вираженими токсико-алергійними реакціями. Для нього характерним є залучення в процес всіх органів та систем, невід’ємною поєднуючою ланкою яких є кров. Відомо, що туберкульозна інфекція супроводжується стійкими порушеннями в функціонуванні системи гемостазу. До них відносяться розвиток ендovasкулітів, гострофазна гіперпродукція факторів згортання крові й інгібіторів фібринолізу, надходження в кровотік із вогнища ураження тканинного тромбoplastину, вивільнення в кров протизапальних медіаторів. Всі ці зміни мають прокоагулянтний характер і, як вже було зазначено, приводять до частого розвитку у хворих на туберкульоз латентно перебігаючого згортання крові.

Однак, однією з причин летальних наслідків туберкульозного процесу залишаються легеневі кровотечі та кровохаркання. Незважаючи на значні

успіхи в лікуванні туберкульозу, це ускладнення нерідко супроводжує деструктивний туберкульоз та веде до летального наслідку у 6 – 24% хворих [45,46,47,48].

Патогенетичні механізми виникнення геморагій у хворих на туберкульоз різноманітні. Найбільш ймовірною причиною є порушення цілісності стінки кровоносних судин у результаті розплавлення казеозних мас в поєднанні з гіпертензією легеневих артерій при прогресуванні туберкульозного процесу. Згідно патогенезу туберкульозного процесу, функціональний стан паренхіматозних клітин у зоні ураження (туберкульозного вогнища) порушується, що проявляється в їхній дистрофії та деструкції. Знижується резорбтивна функція лімфатичних капілярів, виникають ураження ендотелію комплексів, що приводить до геморагій. Зі сторони системи гемостазу легеневі кровотечі можуть бути зумовлені функціональною недостатністю тромбоцитів [30-33].

Слід відзначити той факт, що в більшості випадків у хворих на туберкульоз наростання гіперкоагуляційного потенціалу крові входить в комплекс патофізіологічних реакцій системної запальної відповіді при туберкульозному процесу і включає не тільки активацію гемостазу, а й пригнічення фібринолізу. Хоча прокоагуляційне зрушення зумовлює компенсаторну мобілізацію фібринолітичної системи, вона кількісно відстає від випереджаючого зростання своїх власних інгібіторів, в результаті чого лізис осідаючого в судинах фібрину виявляється уповільненим у хворих на туберкульоз [49].

Сучасна медицина володіє великим спектром лікарських препаратів для цілеспрямованої корекції порушень окремих ланок системи гемостазу. Рациональне використання цих засобів потребує повної інформації про характер порушень, що виникають у кожного окремого хворого. Саме тому обов'язковий діагностичний мінімум для хворих на туберкульоз, особливо у випадках тяжкого та ускладненого перебігу хвороби, повинен включати дослідження

систем згортання та фібринолізу крові [50,51].

Спрямованість цих змін в системі гемостазу можна визначити за допомогою стандартних лабораторно-інструментальних методик (біохімічного аналізу крові, коагулограми, тромбоеластограми та ін.) Однак, дані методи не дозволяють достовірно оцінити ступінь вираженості процесу, його гостроту, тяжкість перебігу з метою прогнозу захворювання та підбору відповідної тактики лікування. Існують методи оцінки ступеня тяжкості туберкульозного процесу за допомогою ІЧ-спектроскопії бронхоальвеолярних змивів, за допомогою визначення концентрації таурину та глутамінової кислоти в плазмі крові, а також методом визначення рівня плазмової еластази [50].

Згідно даних НДІ туберкульозу РАМН [43-45,49] оцінка системи гемостазу у хворих повинна враховувати стан тромбоцитарної та плазмової систем. Відомо, що туберкульозний процес супроводжується прокоагуляційним зрушенням в системі гемостазу як наслідок системної запальної відповіді організму. Неоднозначною є думка щодо характеру змін стану фібринолітичної системи крові: деякі автори вважають, що відбувається її стимуляція, інші – що пригнічення [13,14,20].

Проте, не слід недооцінювати роль генетичних факторів у розвитку патологічного процесу. На сьогоднішній день більшість випадків порушення функціонування згортальної та/або фібринолітичної систем крові пов'язані з генетичними чинниками [51-55]. Тому їх вивчення може розширити сучасні уявлення щодо патогенетичних механізмів розвитку та особливостей перебігу порушень функціонування системи гемостазу.

1.2. Сучасні уявлення про поліморфізм генів системи гемостазу

За останні роки в галузі розшифрування патофізіологічних механізмів

розвитку та перебігу багатьох захворювань був зроблений значний стрибок завдяки бурхливому розвитку генетичної медицини.

Існує велика кількість поліморфних варіантів генів, зокрема системи гемостазу, що є генами схильності до захворювань, що можуть проявлятися при наявності певних зовнішніх чинників [53-55].

Кожен з поліморфізмів генів системи гемостазу має специфічний вплив на функціонування згортальної, протизгортальної та/або фібринолітичної й антифібринолітичної систем крові. Загалом вони впливають на синтез або активність гемостатичних факторів. Своєчасна предикативна профілактика та обізнаність про наявність генних поліморфізмів можуть допомогти науковцям та лікарям скорегувати лікувальну тактику захворювання, надати хворим належну допомогу та попередити ризик розвитку гемостатичних ускладнень, що можуть привести до летальних наслідків [54,56,57].

Частота зустрічальності поліморфних варіантів певних генів системи гемостазу є різною в залежності від етнічної належності та географічної локалізації. Одними з найбільш поширених в Європейській популяції є поліморфні варіанти гену фібринстабілізуючого фактору *F13A1* (*Val/Leu*) та гену інгібітору активатору плазміногену 1-го типу *SERPINE1* або *PAI-1* (*4G/5G*) [54].

Фактор XIII складається з двох каталітичних А субодиниць та двох некаталітичних В субодиниць (F13B). Ген фібринстабілізуючого фактору *F13A1* кодує А субодиницю фактору XIII, останнього фактору, що бере участь у коагуляційному каскаді. Всі форми фактору XIII активуються тромбіном [58].

Фактор 13а каталізує зшивання мономерів фібрину шляхом утворення ізопептидного зв'язку між γ -карбоксамідною групою глутаміну та ϵ -аміногрупою лізину, що приводить до поперечного зшивання фібринових молекул та стабілізації фібринового згустку, що має значну механічну резистентність до протеолізу плазміном [59].

Згідно літературних джерел, наприкінці 80-х років ХХ сторіччя було

встановлено, що ген *F13A1* містить 15 екзонів і охоплює більше 160 кб [60].

Фінські вчені визначили, що заміна гуаніну на тимін веде до заміщення амінокислоти валіну на лейцин в другому екзоні гена *F13A1* [61]. Заміна амінокислоти розташована близько до місця активації тромбіну. Дослідження хворих з ішемічною хворобою серця виявили, що частота зустрічальності *Val/Leu* поліморфізму була знижена у хворих з інфарктом міокарду в порівнянні з рупою пацієнтів без інфаркту. Отримані результати свідчили про захисний ефект *Leu* алеля від інфаркту міокарда [62-65].

Рік потому були представлені докази того, що гомозиготність за *Leu* алелем є сильним захисним чинником проти венозного тромбозу при дослідженні 189 пацієнтів з тромбозом глибоких вен [66,67].

Пізніше було встановлено, що заміна валіну на лейцин збільшує швидкість активації фактора XIII тромбіном і призводить до формування аномальної структури фібринового згустку. Згустки, сформовані *Leu* алелем мають більш тонкі волокна фібрину і знижений індекс співвідношення маси/довжини волокон, а також більш тонку сітчасту структуру зі зниженою проникністю до формених елементів у порівнянні зі згустками, утвореними *Val* алелем [68,69].

Слід за цим відкриттям вченими було припущено, що наявність *Val/Leu* поліморфізму може створювати протромботичний ефект естрогену і допоможе пояснити відмінності в захворюваності артеріальними тромбозами у жінок в постменопаузі, яким призначена замісна гормональна терапія. При дослідженні 955 жінок в постменопаузі, було виявлено асоціацію поліморфного варіанту гену фактора при терапії естрогеном з ризиком розвитку нелетального інфаркту міокарду. Такми чином, наявність *Leu* алеля було асоційовано зі зменшеним ризиком розвитку інфаркту міокарду [70].

В результаті мета-аналізу 12 статей, що оцінюють ефект поліморфного варіанту *Val/Leu* на ризик розвитку інфаркту міокарду (при дослідженні 3663 пацієнтів і 5080 контрольної групи здорових осіб) було виявлено, що заміна

валіну на лейцин асоційована з захисним ефектом ризику розвитку інфаркту міокарду [71-81].

Ген інгібітору активатору плазміногену 1-го типу *SERPINE1* кодує інгібітор активатору плазміногену-1 (PAI-1), що інгібірує тканинний та урокіназний активатори плазміногену у плазміні, що розщиплює фібринові згустки і таким чином *SERPINE1* бере участь в регуляції фібринолізу та лізисі згустків [82,83].

Ген *SERPINE1* приблизно має 12,2 кб в довжину і містить дев'ять екзонів [84].

Підвищення рівня інгібітору активатору плазміногену 1-го типу в плазмі крові пов'язане з одонуклеотидною делецією/інсерцією гуаніну (*4G/5G*) в промоторній ділянці гена. *4G* алель асоційований з більш високим рівнем транскрипції та активності інгібітору активатору плазміногену 1-го типу в плазмі крові. Хоча обидва алелі зв'язані з активатором транскрипції, *5G* алель також зв'язує білок - репресор для перекриття сайту зв'язування. У відсутності зв'язаного репресора, *4G* алель асоційований з підвищеним базальним рівнем транскрипції інгібітору активатору плазміногену 1-го типу [85,86].

Незабаром було встановлено, що частота зустрічальності *4G* алелю була значно вищою у пацієнтів з інфарктом міокарда у віці до 45 (частота алелю 0,63), ніж у контрольній групі населення (частота алелю 0,53) [87].

Дослідження асоціації між поліморфізмом гена інгібітор активатора плазміногену 1-го типу з виникненням ішемічної хвороби серця виявило більшу частоту зустрічальності гомозигот за *4G* алелем в порівнянні з контрольною групою [88-93].

Цікавим є дослідження асоціації поліморфного варіанту гену *SERPINE1*, *4G/5G* з менінгококовою інфекцією. Пацієнти з *4G/4G* генотипом мали значно більш високі концентрації інгібітору активатору плазміногену 1-го типу, ніж з *4G/5G* або *5G/5G* генотипом і мали підвищений ризик летального наслідку. Отримані результати свідчили про те, що порушення фібринолізу є

важливим фактором в патофізіології менінгококової сепсисі. У деяких пацієнтів, що були інфіковані менінгококовою інфекцією, розвивався септичний шок, який супроводжувався активним відкладенням фібрину і формування мікротромбів в різних органах, в той час як в інших групах хворих розвивались бактеріємія або менінгіт без септичного шоку [94-100].

Було проведено дослідження генетичних відмінностей фібринолітичної системи на особливості розвитку менінгококового септичного шоку. В результаті було встановлено, що *4G* алель асоційований зі збільшеним рівнем генної транскрипції генів в клітинних лініях *in vitro* і з підвищеними концентраціями інгібітору активатору плазміногену 1-го типу в носіїв *in vivo*. Пацієнти, у яких родичі були носіями *4G/4G* генотипу ризик розвитку септичного шоку був в 6 разів більш високий, ніж ризик розвитку менінгіту порівнянні з усіма іншими генотипами [101].

Вчені дійшли висновку, що заміна в гені *SERPINE1*, *4G/5G* не впливає на ймовірність зараження менінгококовою інфекцією, але впливає на розвиток септичного шоку [102].

Було досліджено також асоціацію генного поліморфізму з розвитком пре еклампсії у вагітних. Частота зустрічальності *4G/4G* була значно вищою в групі пацієнтів з прееклампсією, ніж у контрольній групі вагітних жінок або здорових добровольців [103-110].

Не було виявлено зв'язку між *4G/5G* поліморфізмом гена *SERPINE1* з ризиком розвитку аневризми черевної аорти при вивченні 47 фінських пацієнтів [111,112].

Таким чином, на даний момент стан поліморфізмів вказаних генів ретельно вивчений переважно в області захворювань серцево-судинної системи. Дані про роль цих поліморфізмів у порушенні функціонування системи гемостазу у хворих на туберкульоз нечисленні [113-120]. Необхідність дослідження стану системи гемостазу у хворих на туберкульоз очевидна.

Тому виявлення в популяції осіб із підвищеною схильністю до

виникнення та патофізіологічних особливостей перебігу захворювання, яке зумовлене не тільки епідеміологічними, соціальними, професійними факторами, а також, можливо, генетичними є виправданим і потребує детального дослідження.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Амосова А. В. Генний поліморфізм системи гемостазу та туберкульоз / А. В. Амосова // Розвиток наукових досліджень 2011 : 7-ма міжнар. наук.-практ. конф., 28-30 листопада 2011 р., Полтава : матеріали. – Полтава, 2011. – Т. 4. – С. 8–12.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика обстеженої групи

Для виконання сформульованих задач дисертаційної роботи було залучено 315 осіб, що були поділені на дві групи. До першої групи – контрольної – були віднесені здорові особи, студенти Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), віком від 17 до 27 років ($n=54$). Група хворих включала 261 особу, що знаходились на стаціонарному лікуванні в Одеській обласній протитуберкульозній лікарні (ООПТЛ) протягом двох місяців. Всі мешканці м. Одеси та Одеської області. Віковий діапазон хворих охоплював групу від 20 до 93 років ($42,03 \pm 0,85$). З них 72,3 % чоловіків та 27,7 % жінок. Критеріями винятку були: наявність тяжкої супутньої патології, вагітність, асоціальна поведінка, що супроводжувалась порушенням лікарняного режиму.

Необхідні анамнестичні дані (вік, стать, місце постійного проживання, клінічний діагноз, особливості перебігу туберкульозного процесу, а саме: особливості лікування та наявність супутньої патології, що ускладнює перебіг основного захворювання, тривалість лікування, рентгенологічну динаміку, результати клінічних, біохімічних та бактеріологічних досліджень) були отримані при аналізі історій хвороб, згідно дозволу головного лікаря про нерозголошення особистих даних хворих під час проведення дослідження.

Основним типом випадку туберкульозу, що виявлявся у хворих був вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) (61,2%). Мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) виявлявся у 14,7 % пацієнтів, рецидив туберкульозу (РТБ) - у 9,4 %. У 5,8 % хворих був діагностований туберкульоз з тривалим

анамнезом лікування (клініко-рентген-лабораторне погіршення стану після основного та повторного курсу терапії, ХТБ), інший туберкульоз (ІТБ) - у 3,6 %. У решти пацієнтів (5,3 %) були виявлені: ризик мультирезистентного туберкульозу (РМРТБ) (2,2 %), невдача лікування туберкульозу (НЛТБ) (1,8 %) і туберкульоз із розширеною резистентністю (РРТБ) (1,3 %).

Згідно уніфікованого клінічного протоколу медичної допомоги з туберкульозу (ТБ) [121] більша частина хворих (59,1 %) була віднесена до 1 клінічної категорії обліку (хворі на вперше діагностований ТБ різних локалізацій з бактеріовиділенням (ВДТБ МБТ+), а також хворі з іншими (тяжкими) формами захворювання різних локалізацій без бактеріовиділення (ВДТБ МБТ(-): міліарним, дисемінованим ТБ, деструктивним легеневим ТБ; менінгітом, казеозною пневмонією, туберкульозним перикардитом, перитонітом, ТБ кишківника, ТБ хребта з неврологічними ускладненнями, уrogenітальним ТБ; ТБ внутрішньогрудних лімфовузлів з ураженням більше ніж 2-х груп з однієї сторони або 2-х і більше груп з обох сторін.). Частина хворих (26,9 %) була віднесена до 2 клінічної категорії обліку (випадки раніше лікованого легеневого і позалегеневого ТБ, що реєструють для повторного лікування: рецидив ТБ різної локалізації з бактеріовиділенням; невдача лікування та лікування після перерви з бактеріовиділенням, інший туберкульоз з або без бактеріовиділення). Решта хворих – 14 % - були віднесені до 4 –ї категорії обліку (хворі на МРТБ, РРТБ та хворі з підтвердженими випадками хіміорезистентного ТБ, які згідно з профілем резистентності вимагають лікування тривалістю понад 12 міс.).

Бактеріовиділення спостерігалось у 11,8 % пацієнтів. З них методом бактеріоскопії кислотостійкі бактерії були виявлені у 58,5 %, культуральним методом – у 30,5 %. Резистентність до хоча б одного з протитуберкульозних препаратів спостерігалась у 37,8 % хворих.

Наявна деструкція легеневої тканини спостерігалась у 19,4 % з досліджених осіб. Летальний наслідок - у 19,2%.

Посів, культивування, ідентифікація та визначення чутливості мікобактерій до протитуберкульозних препаратів були проведені у бактеріологічній лабораторії Одеської обласної клінічної протитуберкульозної лікарні згідно Наказу МОЗ України № 45 [122]. Усі досліджені штами за результатами бактеріоскопічних та бактеріологічних досліджень були ідентифіковані як *Mycobacterium tuberculosis*. Дослідження медикаментозної резистентності до протитуберкульозних препаратів першого та/або другого ряду здійснювалися з використанням методу абсолютних концентрацій на щільному живильному середовищі Левенштейна-Йенсена у відповідності до Наказу [122].

Лікування хворих відбувалось в залежності від типу випадку захворювання (новий випадок або раніше ліковані хворі) та складалося з двох фаз – початкової фази та фази подовження згідно з Наказом МОЗ [123] (Табл. 2.1).

Таблиця 2.1.

Стандартна схема лікування хворих на туберкульоз.

№ п.п.	Випадок захворювання	Початкова фаза (щоденно або інтермітуюче)	Фаза подовження (щоденно або інтермітуюче)
1.	Новий випадок	2 Ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол (HRZE)	4 Ізоніазид, рифампіцин (HR) або 4 ізоніазид (H ₃), рифампіцин (R ₃)
2.	Раніше ліковані хворі	2 Ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол (HRZE)	4 Ізоніазид, рифампіцин (HR)

2.2. Лабораторні (біохімічні) методи дослідження

Функціонування системи гемостазу здійснюється трьома взаємодіючими між собою функціонально-структурними компонентами – стінками кровоносних судин, клітинами крові та плазмовою ферментною системою згортання [124-127].

Судинно-тромбоцитарний (первинний, мікроциркуляторний гемостаз) зупиняє кровотечу з капілярів, дрібних вен та артерій. В лабораторній діагностиці використовуються тести, що відображають стан судинної стінки – це час кровотечі за Дуке; кількість та функціональну активність тромбоцитів – кількість тромбоцитів та проби на адгезію та агрегацію тромбоцитів [128-132].

Коагуляційний (вторинний, макроциркуляторний) гемостаз складається з двох ланцюгів: прокоагулянтного та антикоагулянтного. Прокоагулянтна система забезпечує утворення фібринового згустку. Виділяють три основні фази згортання крові. Перша фаза – протромбіноутворення (4-6 хв.), друга – утворення тромбіна (2-5 сек), третя – утворення фібрин-полімерних комплексів (2-5 сек). Деякі автори виділяють також четверту фазу згортання крові – фазу спонтанного фібринолізу або посткоагуляційну [133,134].

Функціональна активність антикоагулянтної системи забезпечується взаємодією антикоагулянтів та системою фібринолізу. Антикоагулянти запобігають утворенню багаточисленних згустків в крові, а фібринолітична система відповідає за розчинення утворених фібринових згустків.

Кров для дослідження брали у хворих натщесерце з лівої кубітальної вени сухою з широким просвітом голкою. Перші декілька крапель відкидали (вони містять тканинний тромбoplastин з трамбованої шкіри) та набирали кров у мірну центрифужну пробірку з антикоагулянтом (3,8 % цитратом натрію) до рівня 10 мл. Пробірку зачиняли та декілька раз плавними рухами перегортали для змішування крові з антикоагулянтом. Кров досліджувалась у день забору, не пізніше, ніж через три години. Далі кров центрифугували 1000-1500 об/хв. 5 хвилин для отримання багатого на тромбоцити плазми та 3000-4000 об/хв. для отримання бідної на тромбоцити плазми.

Для оцінки стану систему гемостазу було обрано певні коагулогічні тести, що здійснювались за стандартними методиками [135].

Для оцінки функціонування системи гемостазу в першій фазі було обрано визначення активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ)

та часу рекальцифікації плазми (ЧРП).

Принцип методу визначення АЧТЧ полягає у визначенні часу згортання рекальцифікованої бідної тромбоцитами плазми в умовах стандартної контактної (каолінової) та фосфоліпідної (кефалінової) активації. Визначення здійснюється з використанням стандартних реактивів за стандартними лабораторними методиками [4,5,6]. Тест відображає стан початкового етапу внутрішнього механізму згортання, вказує на дефіцит факторів XII, XI, IX або VIII. Скорочення АЧТЧ свідчить про підвищене згортання крові, подовження – про дефіцит факторів внутрішнього механізму згортання крові, ДВЗ-синдром, захворювання печінки тощо [130,132, 134].

Принцип визначення ЧРП полягає в визначенні часу згортання крові після додавання до неї оптимальної кількості цитрату натрію. Підвищення рівня ЧРП свідчить про дефіцит факторів згортання (крім VII, XIII), тромбоцитопенію. Зниження – про гіперкоагуляцію (наявність тромбозів, ДВЗ-синдрому, еритроцитозу).

В якості тесту, що характеризує другу фазу згортання крові було обрано визначення протромбінового часу цілісної плазми за А. Квіком, 1935 [135]. Тест характеризує зовнішній механізм утворення активної протромбінази. Подовження показнику свідчить про дефіцит факторів II, V, VII, X, хронічні захворювання печінки, дефіцит вітаміну К, пізні стадії ДВЗ-синдрому, гіпо-, дисфібриногенемію тощо. Скорочення – про наявність гіперкоагуляційного стану (тромбозів), підвищену активність VII фактору.

З тестів третьої фази були обрані: визначення кількості фібриногену в плазмі хронометричним методом (за Клаусом), визначення тромбінового часу та визначення фібринолітичної активності крові (ФАК).

Принцип методу визначення кількості фібриногену в плазмі хронометричним методом (за Клаусом) полягає в визначенні часу згортання розведеної цитратної плазми надлишком високоактивного тромбіну. Час згортання залежить від концентрації фібриногену в плазмі, що визначають

згідно калібровочного графіку.

Підвищення рівня фібриногену свідчить про наявність гострофазних запальних процесів, захворюваннях нирок, дифузних захворюваннях сполучної тканини тощо. Зниження – про розвиток ДВЗ-синдрому, печінково-клітинну недостатність, шоківі стани тощо.

При визначенні тромбінового часу до реакційної суміші додають суміш тромбіну та блокують перші дві фази згортання крові. Це дозволяє оцінити функціонування антитромбінів в плазмі крові. Результати тесту залежать від концентрації фібриногену та процесів його полімеризації (не залежать від механізму активації протромбіну). Підвищення тромбінового часу свідчить про наявність у хворих захворювань печінки, ДВЗ-синдрому, зниження – про гіперфібриногенемію, патапротеїнемію.

Визначення фібринолітичної активності крові здійснюється в кислому середовищі при низькій температурі. З плазми осаджають еуглобулінову фракцію, що містить фактори згортання крові та фібриноген (переважно плазмін). Отриманий осад розчиняється, фібриноген перетворюється на фібрин. Час від моменту утворення згустку фібрину до його розчину дорівнює ФАК досліджуваного. Подовження часу (відповідає стану пригніченого фібринолізу) показнику притаманно тромбозам, а скорочення часу (відповідає активації фібринолізу) – ДВЗ-синдрому, печінково-клітинній недостатності, шоківі, стресовим станам тощо.

Четверту фазу було охарактеризовано тестами визначення активності фібрин-стабілізуючого фактору в плазмі крові, ретракції кров'яного сгустку та прокоагуляційним тестом (етаноловим).

Активність фібринстабілізуючого фактору (ФСФ) в плазмі крові визначали у розчині кислої щавелево-оцетової сечовини при додаванні до реагуючої суміші моноіодоцетової кислоти. Вона частково блокує активність ФСФ. Час розчину згустку залежить від активності ФСФ плазми. Підвищення (тобто зниження активності) показнику свідчить про наявність у пацієнта

захворювання печінки, ДВЗ-синдрому, вродженого дефіциту фактору XIII. Зниження активності ФСФ (підвищення активності) свідчить про великий обсяг гемотрансфузій.

Етаноловий тестом визначають шляхом утворення желеподібної маси в плазми при додаванні до неї 50% етанолу. Це свідчить про наявність в ній фібрин-мономерних комплексів с продуктами деградації фібриногену.

Дослідження стану системи гемостазу у обох групах досліджених (контрольній групі здорових осіб - 54 та групі хворих на туберкульоз - 261) проводилося з використанням стандартних гемокоагулологічних скринінгових тестів на базі лабораторії ООПТЛ. Коагулограма включала: визначення кількості тромбоцитів (КТ), швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (АТ), часу рекальцифікації плазми (ЧРП), активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ), протромбінового часу (ПЧ), тромбінового часу (ТЧ), загального фібриногену, фібринолітичної активності крові (ФАК), активності фібринстабілізуючого фактору (ФСФ), ретракції кров'яного згустку (РКЗ) та прокоагуляційного тесту (етанолового) [135,136].

2.3. Дослідження стану системи гемостазу методом НППГК

Для визначення хронометричних і амплітудних констант гемокоагуляції було застосовано метод низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемокоагулографії (НППГК) за допомогою аналізатора реологічних властивостей крові портативного АРП – 01 «Меднорд». Аналізатор призначений для клінічних досліджень агрегатного стану крові, аналізу й інтегративної оцінки гемокоагуляції та фібринолізу. В основі методики лежить реєстрація навіть незначних змін агрегатного стану крові, що відбивають внутрішні процеси, які перебігають у крові при її згортанні і лізису згортку.

Протягом усього дослідження будується крива, що відображає процес, розраховуються амплітудні та хронометричні константи, які характеризують основні етапи гемокоагуляції та фібринолізу [137].

Принцип методу полягає в реєстрації апаратом зміни опору досліджуваного середовища коливань голки, закріпленої на п'єзоелектричному датчику у діапазоні від 0 до (950 ± 50) відносних одиниць, протягом встановленого часу дослідження (хв.). Відносна похибка реєстрації складає не більше від 5%. Робочий об'єм знімної склянки для досліджуваної рідини (кювети) складає 1,5 мл. Температура контрольованої проби крові підтримується в термостаті в інтервалі $37,0 \pm 0,5$ °С. Час реєстрації процесів гемокоагуляції, ретракції і спонтанного лізису згустку крові встановлюється користувачем і складає не більше 60 хв. Резонансна частота коливання голки датчика в корпусі на повітрі складає 2670 ± 150 Гц . Комплекс забезпечує виведення на екран комп'ютера графіка зміни опору досліджуваного середовища коливань голки датчику, а також відповідних показників дослідження [138].

Побудова графіка (рис. 2.1) змін агрегатного стану крові здійснюється в системі координат, де по осі абсцис відображається час дослідження в хвилинах від 0 до 60 (90), а по осі ординат амплітуда у відносних одиницях від 0 до 1000 відн. од. Амплітуда в кожній точці визначається у відносних одиницях.

Базовий часовий інтервал для визначення основних (алгоритмічних) точок графіка і розрахунку параметрів дослідження реологічних властивостей крові складає 1 хвилину.

Показники, що характеризують початкові етапи згортання крові включають:

«A0» - початковий показник агрегатного стану крові.

«T0» - час початку дослідження.

«A1» - показник, що характеризує максимальну зміну агрегатного стану досліджуваної крові на етапі контактної активації (відн. од.). Відображає величину протромбіназної активності, контактано-калікреїн-кініно-каскадної

реакції крові (відн. од.).

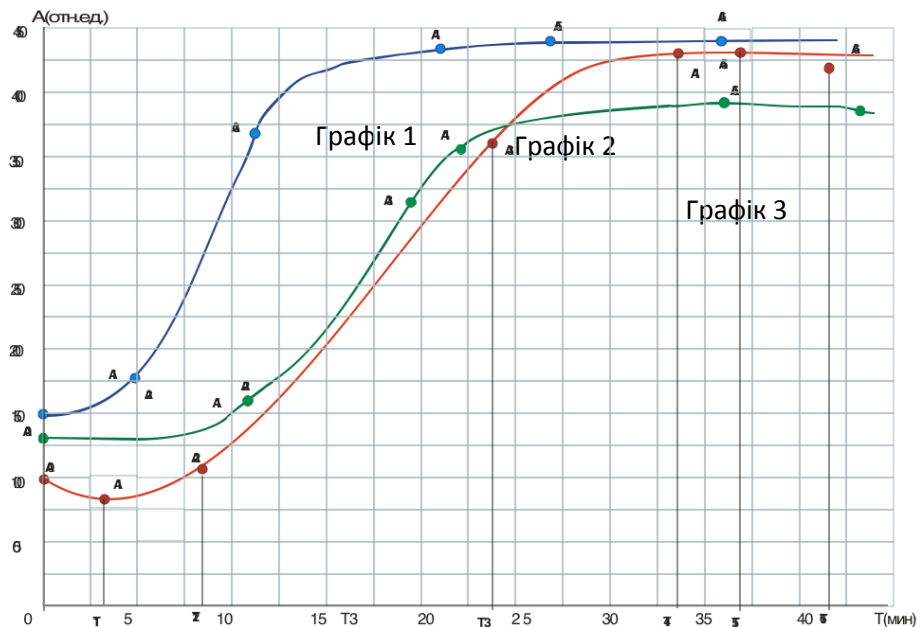


Рис.2.1. Графіки агрегатного стану крові груп здорових добровольців.

«ІКК» - інтенсивність контактної фази коагуляції, обчислюється емпірично. Показник, що характеризує інтенсивність реакції крові, протромбіназної активності, агрегаційну активність тромбоцитів та інших клітин крові.

У процесі протеолітичного, полімеризаційного і стабілізаційного етапів II-III фаз згортання крові відбуваються зміни її фізико-хімічного стану, наслідком чого є перетворення в'язко-пластичної рідини в в'язко-пружну. На графіку це супроводжується значними змінами амплітуди кривої, що відображає процес.

«К» - константа тромбінової активності - основний показник, що характеризує час початку утворення згустку та залежить від концентрації утворення тромбіну, антитромбінового потенціалу крові, концентрації і функціональної повноцінності фібриногену, чинників протромбінового комплексу.

«А3» - показник, що характеризує агрегатний стан крові на етапі

початку процесу полімеризації згустку (закінчення протеолітичного етапу).

«ІКД» - інтенсивність коагуляційного драйву - показник, що характеризує інтегративний вплив про- й антикоагуляційних систем на процес (швидкість) утворення згустку (I + II + III фаз).

«А4» - показник, що характеризує агрегатний стан крові за 10 хв. після досягнення величини «А3».

«ІПЗ» - інтенсивність полімеризації згустку - показник, що характеризує швидкість з'єднання мономерних молекул «бік-в-бік», «кінець-в-кінець» формує мережу фібрину з пептидною формулою.

«А5» - показник, що відображає агрегатний стан крові в заключному, стабілізаційному етапі тромбоутворення. Відображає завершення гемостазу утворенням ковалентних зв'язків під дією XIIIф.а. Характеризує структурні реологічні властивості згустку (в'язкість, щільність, пластичність).

«Т» - час формування стабільного згустку (константа тотального часу згортання крові).

«ІТС» - щільність фібрин-тромбоцитарної структури згустку. Визначається емпірично. Показник характеризує інтегративну взаємодію всіх компонентів, що беруть участь в утворенні згустку, поперечношитої фібрину (фібриногену, активного фактору XIIIа, концентрації і функціональної активності тромбоцитів).

«ІРЛЗ» - інтенсивність реакції і лізису згустку. Показник, що характеризує, спонтанний лізис згустку. Відображає інтенсивність неперервного процесу гемокоагуляції, стан плазмінової активності, кількість структурованого в згусток плазміногену, ступінь лабільності активаторів плазміногену (тканинного, урокіназного, калікреїн, XIа, XIIа)

Метод НПК дає можливість здійснити регенерацію всього процесу гемокоагуляції з моменту контакту крові з чужорідною поверхнею (голка-шприц-кювета) до закінчення тромбоутворення - ретракція, лізис-поперечношитий фібрин. Апарат АРП-01-М «Меднорд» - максимально

адаптований до повсякденної клінічної практики, а програма «Х-Гемо-3» дає можливість в режимі реального часу стежити за станом системи гемостазу [137,138].

2.4. Біофізичні методи дослідження (ЛКС)

Вивчення субфракційного складу плазми крові виконувалось з використанням методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) за допомогою лазерного кореляційного спектрометра «ЛСК-03» (Інститут ядерної фізики РАН, Санкт-Петербург, Російська Федерація).

Суть методу лазерної кореляційної спектроскопії полягає в реєстрації гідродинамічних розмірів часток біологічних рідин (в даному випадку, плазми крові). Метод заснований на зміні спектральних характеристик монохроматичного випромінювання гелій-неонового лазера в результаті світлорозсіювання при проходженні через дисперсну систему [139,140].

Апарат дозволяє фіксувати та оцінювати зміни макромолекулярних субфракцій біологічних рідин при патологічних станах різного генезу, якщо розміри представлених в них складових знаходяться в межах від 2 до 10000 нм.

Результат дослідження біологічного зразка відображається у виді гістограм, де по осі абсцис розташований розмір інгредієнтів (гідродинамічний радіус в нм), а по осі ординат – світлорозсіювальна ефективність (%). Всі світлорозсіювальні частки розподілені на п'ять диференційних зон, в залежності від розміру: I зона – наднизькомолекулярна – від 0 до 11 нм; II зона – низькомолекулярна – від 12 до 38 нм; III зона – середньомолекулярна – від 39 до 95 нм; IV зона – високомолекулярна – від

96 до 264 нм та V надвисокомолекулярна – більше 264 нм [139,141,142].

До першої зони часто потрапляють переважно низькомолекулярні альбулярні білки, гліколіпідні вільні комплекси. До другої – глобулярні білки, ліпопротеїди високої щільності; до третьої – ліпопротеїни низької щільності, рибонуклеопротейни, дезоксирибонуклеопротейни, низькомолекулярні імунні комплекси; до четвертої – імунні комплекси середнього розміру та до п'ятої – високомолекулярні імінні комплекси, що найчастіше відповідають процесам алергізації та ауто імунізації організму.

Формування зон було здійснено емпіричним способом при багаторічному дослідженні різних захворювань та підкреплено експериментально змодельованими патологічними процесами [143-161].

Вказана семіотична класифікація ЛК-спектрів біологічних рідин дозволяє встановити багатопараметровий симптомокомплекс, що характеризує анаболічну та катаболічну спрямованість зрушень в організмі. Оцінка функціонування системи гемостазу здійснюється шляхом встановлення характеру семіотики певних зрушень в організмі, властивих певним захворюванням, а не на основі етіологічних чинників.

Забір біопроб здійснювався натщесерце одномоментно в уранішні години. Кров для отримання та аналізу сироватки крові брали з IV пальця лівої руки за стандартною методикою. Через 40 - 60 хвилин після забору крові, що зберігалась при кімнатній температурі, згусток в пробірці обводився стерильною скляною паличкою і пробірки центрифугувались при 2000 об\хв протягом 30 хв. Сироватка крові, що утворилася після центрифугування, відбиралась в стерильні пластикові пробірки типу «еппандорф» об'ємом 1,5 мл, швидко заморожувалась при температурі - 20⁰С і зберігалась до моменту дослідження.

Перед дослідженням зразки розморожували в термостаті при 37⁰С протягом 30 хв. Потім плазму крові розводили в 10 разів стерильним фізіологічним розчином. Для цього 25 мкл сироватки крові переносили в

окрему пробірку, куди додавали 200 мкл 0,9 % розчину NaCl. Розведені зразки повторно центрифугували протягом 15 хв. при 5000 об/хв. Після цього пробу в об'ємі 250 мкл поміщали в кювету спектрофотометра і проводили вимірювання в частотному діапазоні 8192 Гц в кількості 1000 накопичень. Регуляризація спектра проводилася з використанням нелінійної шкали, після чого відповідність спектра тієї чи іншої дискретної семіотичній групі встановлювали за допомогою програми класифікатора «Blood», що додається до прибору [141,143].

2.5. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Молекулярно-генетичні дослідження проводилися в Науково-дослідницької лабораторії актуальних інфекцій клінічної біофізики Одеського національного медичного університету.

Виділення геномної ДНК досліджуваних генів відбувалося за допомогою метода полімеразної ланцюгової реакції з плазми крові хворих на туберкульоз.

Визначення поліморфізмів генів фібринстабілізуючого фактору *F13A1* (*Val/Leu*) та інгібітору активатора плазміногену 1 типу *SERPINE1* (*4G/5G*) було проведено у хворих на туберкульоз та у студентів віком від 17 до 27 років (контрольна група здорових осіб) мешканців м. Одеси та Одеської області.

Геномну ДНК генів виділяли з крові досліджуваних (хворих та здорових осіб) за допомогою реагентів комерційного набору "ДНК-сорб-Б" («Амплісенс», Москва). Виділення складалося з наступних етапів:

1. До попередньо розігрітого до 65⁰С лізуючого розчину у кількості 300 мкл додавали 100 мкл крові. Старанно перемішували на вортексі, прогрівали 5 хв при температурі 65⁰С та центрифугували 5 с при 5000 об/хв. на

мікроцентрифузі.

2. В кожную пробірку додавали по 25 мкл сорбенту універсального та послідовно перемішували через 2 та через 5 хвилин. Осаджували сорбент центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 30 с та відбирали вакуумним відсмоктувачем надзалишкову рідину.

3. Додавали в кожную пробу по 300 мкл розчину для відмивки № 1, перемішували на вортексі. Осаджували центрифугуванням при 5000 об/хв 30 с та знову відбирали над залишкову рідину.

4. Додавали до проб 500 мкл розчину для відмивки № 2, перемішували на вортексі до повного ресуспендирування, центрифугували на мікроцентрифузі 30 с при 10000 об/хв. Відбирали над залишкову рідину. Цей етап повторювали ще один раз, лише за тим винятком, що надзалишкову рідину видаляли повністю.

5. Пробірки поміщували до термостату при температурі 65⁰С з відкритими кришками для висушування сорбенту універсального на 5-10 хв.

6. Додавали до пробірок по 50 мкл ТЕ-буферу для елюції ДНК, перемішували на вортексі та поміщували до термостату на 5 хв при той самій температурі.

7. Центрифугували проби при 12000 об/хв 1 хв та відбирали надзалишкову рідину, що містить ДНК.

Поліморфні ділянки генів *F13A1* та *PAI-1* були ампліфіковані за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі «Терцик» фірми «ДНК-технологія» з використанням локуспецифічних олігонуклеотидних праймерів згідно протоколу ПЛР для одномоментного аналізу поліморфізму даних [162-167].

Виділення поліморфної ділянки гену коагуляційного фактору XIII (*F13A1 Val/Leu*), що характеризується заміною амінокислоти валін на лейцин, визначалось з використанням локуспецифічних олігонуклеотидних праймерів: прямого 5'- АСТ ТТС АГГ АСС ГСС ТТТ ГГА ГГС - 3' та зворотнього 3'-

GTT GAC GCC CCG GGG CAC CG - 3' []. До складу ПЛР суміші входили: ПЛР - суміш № 2 - blue фірми «Амплісенс», Москва – 10 мкл, суміш деоксинуклеозид трифосфатів («Амплісенс») – 2,5 мкл, прямий та зворотній праймери – по 36 пкмоль кожного та 10 мкл ДНК. Ампліфікаційний термічний режим був таким: 1 цикл – 5 хв – 95⁰С, 40 циклів – 1 хв – 95⁰С, 1 хв - 55⁰С, 1 хв – 72⁰С та 1 цикл – 5 хв - 72⁰С [163]. Ензимна рестрикція *Hin*6I («Fermentas», EU) рестриктазою проводилась з додаванням до 1 мкл ПЦР продукту 16 мкл апірогенної води, 2 мкл специфічного буферу (10X Buffer Tango) та 1 мкл *Hin*6I рестриктази [165]. Суміш перемішували на вортексі та поміщували у термостат на 2 години при температурі 37⁰С. Ампліфікована довжина продукту складала 114 п.н. (*Leu/Leu*). Після рестрикції та електрофорезу довжина фрагментів у гомозигот складала 94 п.н., (*Val/Val*), що відповідає нормальному алелю. У гетерозигот – 114 п.н. та 94 п.н. (*Val/Leu*) – відповідно спостерігались оба фрагменти в минаючому ультрафіолетовому світлі (Рис. 2.3) [167].

Визначення інсерційно-делеційного поліморфізму гену *SERPINE1* (інгібітору активатору плазміногену 1 типу, -675 4G/5G) відбувалось з використанням алеле-специфічної ПЛР за допомогою праймерів: 5'-CAC AGA GAG AGT CTG GCC ACG T-3' та 5'-CCA ACA GAG GAC TCT TGG TCT-3' [113,115]. Ампліфікація продуктів відбувалась у загальному об'ємі 50 мкл, що включає 100 нг ДНК, 0,8 мкмоль/л кожного з праймерів, 200 мкмоль/л dNTP, буфер для рестрикції (рН - 8,3) та 1U *TAQ* ДНК полімерази за допомогою термічної циклічної реакції. Аналіз електрофорезу отриманих фрагментів (77 і 22 п.н. для 5G алелей та 98 п.н. для 4G алелей) у 3% агарозному гелі відбувався за допомогою фарбування етидіумбромідом і наступною візуалізацією в минаючому ультрафіолетовому світлі [164].

2.6. Методи статистичного аналізу

Статистична обробка отриманих результатів проводилася з використанням персонального комп'ютера за допомогою програм Microsoft Excel та «Statistica» 7.0. Статистична обробка даних складалася з обчислювання середнього значення числової характеристики досліджуваного процесу (M), стандартної помилки середнього арифметичного (m), середнього квадратичного відхилення (σ), критерію Стьюдента t (коефіцієнта ймовірності). Достовірність відмінностей між групами визначались за допомогою критерію Пірсона χ^2 (критерій відповідності). Аналіз достовірності між відсотковими величинами визначався за допомогою критерію відносного ризику (RR – rates ratio or relative risk), асоційованість одних показників з другими оцінювалась за відношенням шансів (OR – odds ratio). Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (p) приймався рівним 0,05 [168].

РОЗДІЛ 3

ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

3.1. Аналіз змін показників ситеми гемостазу в досліджуваних групах

У літературі останніх десятиліть зустрічаються різні дані про роль системи гемостазу в реакціях клітинного та гуморального імунітету [14,20,25,40,169].

Туберкульоз – це інфекційне захворювання, що характеризується утворенням в уражених тканих вогнищ специфічного запалення та вираженої загальної реакції організму. Клінічні прояви туберкульозу в залежності від його форми різноманітні, але наявність в організмі *M.tuberculosis* активує всі існуючі в організмі системи захисту. Домінуючим в клініці туберкульозного процесу вважається порушення функціонування Т-клітинного імунітету та фагоцитарних клітин, а саме макрофагів [19,21,30]. Ці клітини мають не тільки високу фагоцитарну активність, а ще й виступають у ролі потужних медіаторів запалення. На їхній поверхні знаходяться рецептори до C_{3a} компоненту системи комплементу, що активує та посилює фагоцитоз. Активація самої системи комплементу відбувається при потраплянні в організм чужорідного агенту, а саме *M.tuberculosis*. Система комплементу знаходиться в тісному зв'язку з кініновою системою, що є єдиною системою з процесом згортання крові та фібринолізом [22,37]. Початковим компонентом кінінової системи є XII фактор згортання крові (фактор Гагемана). Цей фактор розпочинає каскадно-матричний процес згортання крові по внутрішньому шляху. Ініціація активації ФХІІ в його активну форму – ФХІІа – відбувається при оголенні негативно

зарядженої поверхні у межах судинної стінки (наприклад, колаген капілярів мікроциркуляторного русла). Після послідовного каскаду ферментативних реакцій при участі прекалікреїну, високомолекулярного кініногену та ФХІ, ФХІа активує систему комплементу та перетворює брадикіноген в брадикінін – потужний медіатор запалення, що підвищує проникність капілярів, залучає фагоцити до вогнища запалення та підвищує тонус гладенької мускулатури бронхів [127,128,130].

Тромбоцити також виступають у ролі однієї з основних, невід’ємних ланок процесу гемостазу, а саме його судинно-тромбоцитарного механізму.

Їм притаманні наступні основні властивості: фагоцитоз, амебоподібна рухливість, секреторна активність, агрегація та адгезія [126,132]. Деякі фактори, що активують тромбоцити та ініціюють таким чином процес агрегації, синтезуються лейкоцитами, макрофагами, тромбоцитами та судинною стінкою.

Ендотелій, що вистилає судини, також бере активну участь в регуляції процесу гемостазу. В нормі йому притаманна тромборезистентна властивість, але при травмі або стимуляції він перетворюється в активну прокоагулянтну поверхню. Також ендотелій судин виробляє кініні, мова про які була раніше. Таким чином, ми зустрічаємось з одним з прикладів мультифакторіальної взаємодії різних систем на одні й ті самі чинники.

Зміни показників системи гемостазу було оцінено за допомогою стандартної коагулограми, що включає перелік скринінгових гемокоагулогічних показників, що здійснюються всім пацієнтам ООПТЛ м. Одеси на базі лабораторії лікарні за стандартними методиками у групі хворих на туберкульоз та контрольній групі здорових осіб. До них входили визначення кількості тромбоцитів (КТ), агрегації тромбоцитів (АТ), часу рекальціфікації плазми (ЧРП), активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ), протромбінового часу (ПЧ), тромбінового часу (ТЧ), фібриногену А (Ф), фібринолітичної активності крові (ФАК), фібриназної активності або активності фібринстабілізуючого фактору (ФСФ), ретракції кров’яного згустку

(РКЗ) та прокоагуляційного тесту (етанолового).

Дослідження хворих методом коагулограми проводилось два рази: перший – при госпіталізації в ООПТЛ, другий – через 2 міс після початку курсу стандартизованої хіміотерапії. Це зумовлено тим, що, по-перше, згідно Протоколу лікування хворих на туберкульоз [121] ефект від протитуберкульозних препаратів повинен спостерігатись к кінцю другого місяця безперервного лікування. «Ударний» курс хіміотерапії розрахований на 2 міс, після чого при наявності позитивної динаміки, призначається курс підтримуючої терапії. По-друге, згідно Протоколу ведення хворих [121,123] на туберкульоз, повторне біохімічне та загальноклінічне дослідження проводиться скринінгово через 2 міс після початку лікування.

Всього було досліджено 315 осіб, з яких 54 склали контрольну групу здорових осіб, 261 – групу хворих на туберкульоз. Для оцінки функціонування системи гемостазу у хворих на легеневий туберкульоз за результатами біохімічних досліджень, безпосередньо, було досліджено 224 хворих. Повторно, тобто через 2 міс. після початку курсу хіміотерапевтичного лікування, було отримано результати біохімічних досліджень 102 хворих на туберкульоз. Коонтрольну групу для аналізу гемокоагулогічних показників склали 40 здорових осіб з 54.

При оцінці біохімічних показників, що характеризують показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу, нами було проведено порівняльний статистичний аналіз змін показників у групах хворих на легеневий туберкульоз на початку стаціонарного лікування та через два місяці після початку лікування з контрольною групою, а також аналіз характеру змін показників між обома групами хворих.

У групі хворих на туберкульозну інфекцію на початку стаціонарного лікування спостерігалось статистично вірогідне ($p < 0,05$) підвищення рівня швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів на 16,1 %, подовження АЧТЧ (на 10,1%), ПЧ (на 13,6%) та збільшення вмісту фібриногену (на 103,3%) у

порівнянні з контрольною групою. Позитивний етаноловий тест був виявлений у 40 % пацієнтів порівняно з контрольною групою здорових осіб (Табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у контрольній групі та у групі хворих на туберкульоз ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Здорові особи (контрольна група)	Хворі на туберкульоз	
			На початку лікування	Через 2 міс після початку лікування
			N=40	N=224
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$282,9 \pm 101,3$	$327,2 \pm 69,3$ ^{2,3}
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$44,6 \pm 12,5$ ¹	$42,8 \pm 8,2$ ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$138,9 \pm 37,8$	$123,4 \pm 26,3$ ^{2,3}
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$64,5 \pm 9,7$ ¹	$64,9 \pm 5,8$ ²
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$17,2 \pm 3,9$ ¹	$16,7 \pm 2,0$ ²
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$17,0 \pm 2,9$	$16,8 \pm 1,9$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,1 \pm 2,6$ ¹	$5,5 \pm 1,9$ ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$176,4 \pm 20,0$	$177,0 \pm 12,9$ ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$70,3 \pm 11,9$	$74,4 \pm 9,6$ ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 ± 6 %	42 ± 8 %	39 ± 6 % ³

Примітки: 1.¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2.² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3.³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Загалом отримані результати свідчать про наявність у хворих на етапі госпіталізації прокоагуляційного зрушення [40,43,44], що може бути пов'язано: з гострофазовими запальними або некротичними реакціями інфекційного генезу, що перебігають в організмі хворого на туберкульоз; ураженнями печінки, де відбувається синтез більшості факторів згортання крові [170]; ураженням нирок [171] та ін., що може бути причиною початку розвитку латентно перебігаючого ДВЗ-синдрому [24,173] (Рис. 3.1).

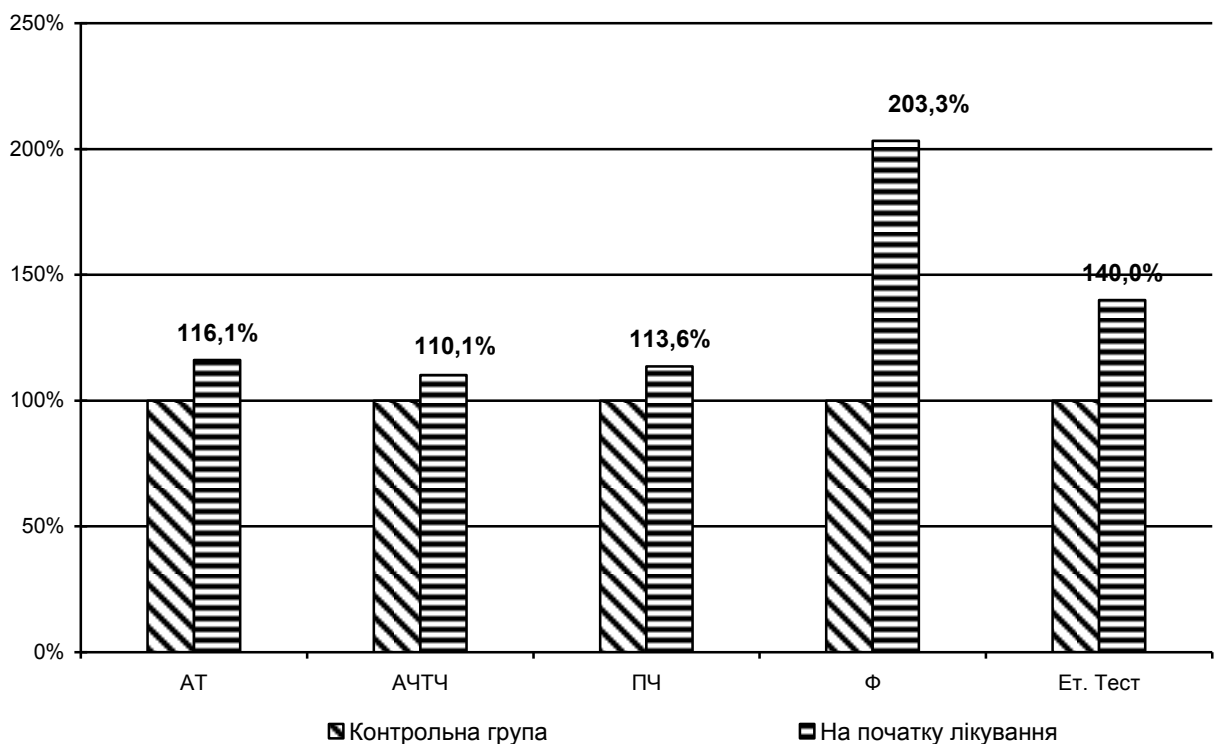


Рис.3.2. Зміни статистично вірогідних ($p < 0,05$) гемокоагулогічних показників у хворих на туберкульоз на момент госпіталізації порівняно з контрольною групою.

Через два місяці після безперервного курсу специфічної хіміотерапії згідно Наказу МОЗ України № 499 від 28.10.2003 р. «Про затвердження інструкцій щодо надання допомоги хворим на туберкульоз і неспецифічні

захворювання легень» у групі хворих на туберкульоз було вірогідне збільшення кількості тромбоцитів на 26,1 %, швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів на 11,5 %, скорочення часу рекальцифікації плазми крові на 10,0 %, незначне збільшення активованого часткового тромбопластинового часу на 10,8 % та протромбінового часу на 8,4 %, збільшення рівня фібриногену лише на 86,7 %, зниження активності фібринстабілізуючого фактора на 12,0 % та незначне зниження фібринолітичної активності крові на 3,6 % порівняно з контрольною групою (Рис. 3.2).

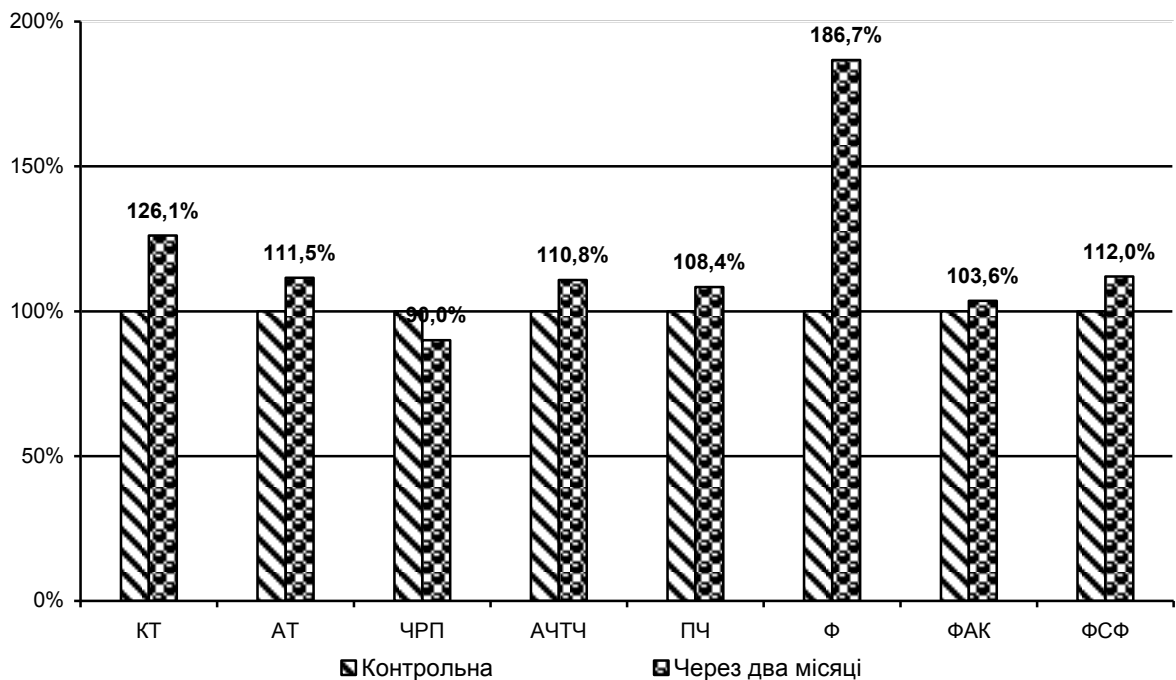


Рис. 3.2. Зміни статистично вірогідних ($p < 0,05$) гемокоагулогічних показників у хворих на туберкульоз через два місяці після початку лікування порівняно з контрольною групою.

Слід зауважити, що у групі досліджених хворих через два місяці після початку лікування спостерігалось статистично достовірне збільшення рівня кількості тромбоцитів на 15,9 %, укорочення часу рекальцифікації плазми крові

на 11,0 %, пригнічення активності фібринстабілізуючого фактору на 5,8 % та інтенсивності ретракції кров'яного згустка на 3,0 %, ніж на початку лікування. Це може підтверджувати наростання змін показників коагуляційної та фібринолітичної систем у хворих з часом, не зважаючи на лікувальні заходи (Рис. 3.3).

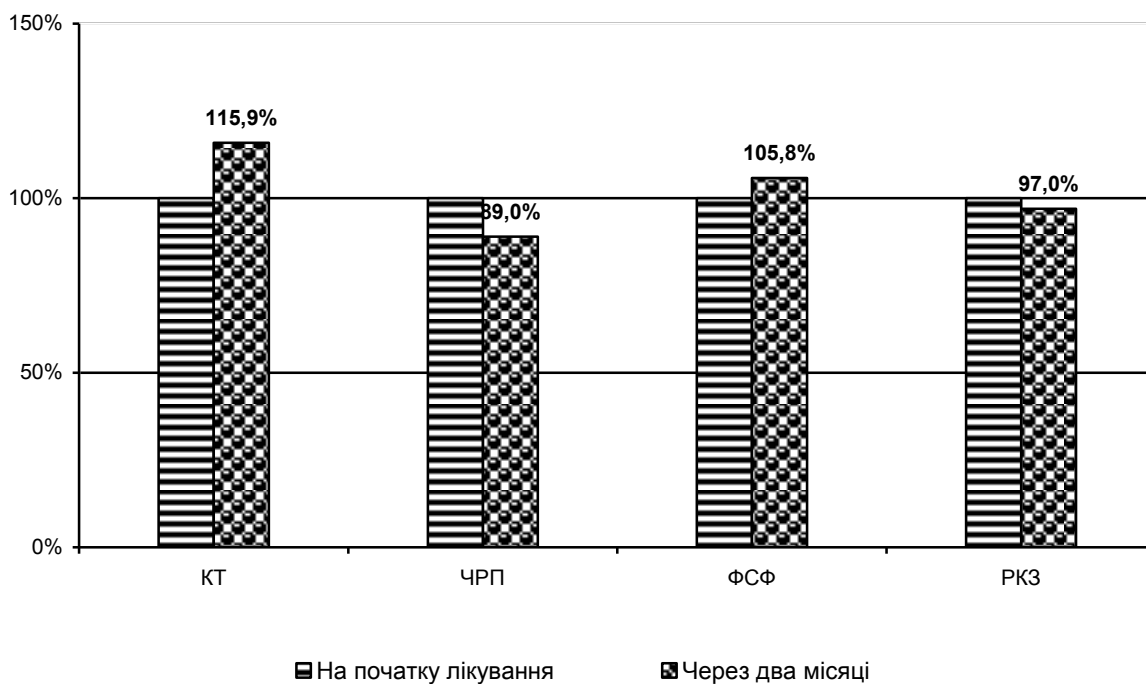


Рис. 3.3. Зміни статистично вірогідних ($p < 0,05$) гемокоагулогічних показників у хворих на туберкульоз до та через два місяці після початку лікування.

Для подальшого аналізу отриманих даних всі хворі були поділені на чотири основні групи відповідно до типу випадку туберкульозного процесу: I - група хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ); II - група хворих на мультирезистентний туберкульоз (МРТБ); III - з тривалим анамнезом лікування, хронізацією туберкульозу (ХТБ) та IV - група хворих на інші форми. До складу групи хворих на ХТБ були також віднесені хворі на рецидив туберкульозу (РТБ). В групу хворих з іншими формами увійшли хворі з

інфільтративним туберкульозом легень (1,3 %), нижньодольовою пневмонією (1,3 %), полірезистентним туберкульозом ПРЛТБ (0,9 %), ризиком розвитку МРТБ (0,9 %), туберкульозом із розширеною резистентністю РРТБ (0,9 %) та невдачею лікування туберкульозу ННТБ (0,9 %). До складу всіх груп входили хворі чоловіки та жінки віком від 20 до 93 років.

Оцінка отриманих даних проводилась за допомогою порівняння біохімічних показників хворих на момент госпіталізації та через два місяці після початку лікування з показниками контрольної групи, та порівняння зміни цих показників між обома групами хворих (Табл. 3.2).

Характер змін гемокоагулогічних показників у хворих на ВДТБ співпадає зотриманими результатами показників хворих на туберкульоз до та після курсу хіміотерапевтичного лікування: у обох групах хворих на ВДТБ на момент госпіталізації та через два місяці після початку лікування спостерігається статистично вірогідне збільшення рівня кількості тромбоцитів, швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів, подовження АЧТЧ, ПЧ, збільшення вмісту фібриногену у порівнянні з контрольною групою.

У групі хворих через два місяці після початку лікування спостерігається статистично вірогідне зменшення активності ФСФ та фібринолітичної активності крові у порівнянні з контрольною групою. Рівень інших показників залишається вірогідно високим. Також через два місяці після початку лікування у хворих на ВДТБ відмічається вірогідне вкорочення часу рекальцифікації плазми крові (на 9,7%), зменшення активності ФСФ (на 7,3%) та ретракції кров'яного згустку у порівнянні з даними на момент госпіталізації.

Дана ситуація свідчить про вираженість та наростання з часом прокоагуляційний процесів, які супроводжуються з часом пригніченням активності фібринолітичної системи, що співпадає з даними для загальної групи хворих на туберкульоз (Рис. 3.4).

Таблиця 3.2.

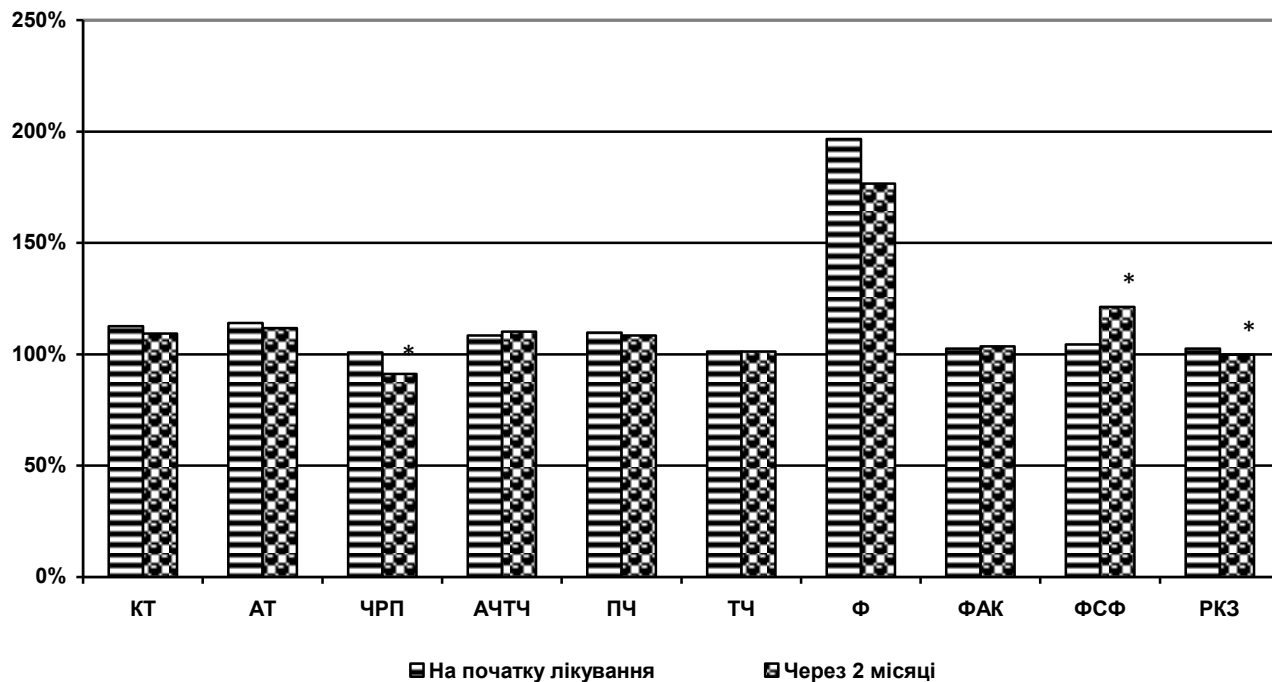
Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі хворих на ВДТБ та у контрольній групі ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Здорові особи (контрольна група)	Хворі на ВДТБ	
			На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
			N=40	N=139
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$292,3 \pm 24,5^1$	$283,6 \pm 25,1^2$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$43,8 \pm 12,6^1$	$42,9 \pm 8,5^2$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$138,3 \pm 33,9$	$125,1 \pm 24,9^3$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$63,5 \pm 9,5^1$	$64,6 \pm 5,96^2$
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,9 \pm 3,6^1$	$16,7 \pm 2,1^2$
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,8 \pm 3,1$	$16,8 \pm 2,1$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$5,9 \pm 2,7^1$	$5,3 \pm 1,5^2$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$175,1 \pm 19,3$	$176,7 \pm 13,8^2$
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$69,3 \pm 11,5$	$74,2 \pm 9,6^{2,3}$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$41 \pm 8 \%$	$39 \pm 6 \%^3$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.



Примітки: * - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та через два місяці після початку лікування; $p < 0,05$.

Рис. 3.4. Зміни показників гемокоагулограми хворих на ВДТБ.

Група хворих на МРТБ відрізнялась меншою кількістю хворих ($n=25$). Аналіз змін коагулогічних показників виявив ідентичну картину змін показників системи гемостазу, як і у групи хворих на ВДТБ (Табл. 3.3).

В групі хворих на МРТБ спостерігається статистично вірогідне подовження АЧТЧ та збільшення концентрації фібриногену на госпіталізаційному етапі та впродовж досліджуваного періоду у порівнянні з контрольною групою. Статистично вірогідне збільшення ПЧ, ФСФ та агрегації тромбоцитів спостерігається тільки у групі хворих, що пройшли курс лікування впродовж двох місяців, але це не суперечить основній отриманій картині гемокоагуляційних порушень, а тільки підтверджує їх, відображаючи погіршення з часом рівня показників (Рис. 3.5).

Таблиця 3.3.

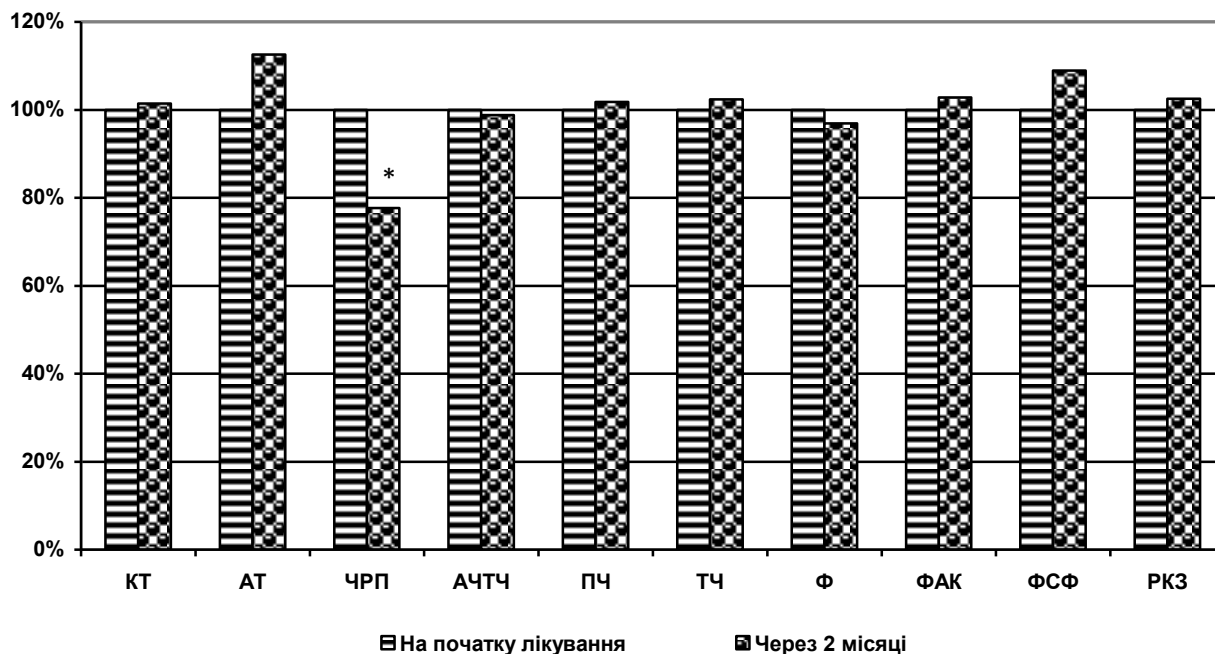
Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу в групі хворих на МРТБ та у контрольній групі ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	Хворі на МРТБ	
			На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
		N=40	N=25	N=12
1	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$287,3 \pm 23,1^1$	$291,2 \pm 21,2^2$
2	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$39,0 \pm 7,2$	$43,9 \pm 8,6^2$
3	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$138,3 \pm 34,2$	$107,4 \pm 18,1^3$
4	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$65,6 \pm 5,9^1$	$64,8 \pm 6,0^2$
5	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,9 \pm 1,9$	$17,2 \pm 2,0^2$
6	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,8 \pm 1,6^1$	$17,2 \pm 1,9$
7	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,5 \pm 2,0$	$6,3 \pm 2,2^2$
8	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$175,5 \pm 15,0$	$180,5 \pm 14,9$
9	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$69,5 \pm 11,3$	$75,7 \pm 10,2^2$
10	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$39 \pm 1 \%^1$	$40 \pm 1 \%$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.



Примітки: * - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та через два місяці; значення показників групи на початку лікування прийнято за 100% ; $p < 0,05$.

Рис. 3.5. Зміни гемокоагуляційних показників хворих на МРТБ.

При порівняльному аналізі гемокоагулологічних показників хворих на ХТБ (III групи) особливих відмінностей у порівнянні з показниками попередніх груп виявлено не було (Табл. 3.4).

У хворих на ХТБ, не зважаючи на довгу тривалість інфекційного процесу, картина гемокоагулологічних змін залишається майже такою ж, як і в попередніх групах: у хворих спостерігається статистично вірогідне подовження АЧТЧ (на 9,6 % на початку лікування та 8,6 % через 2 міс.), ПЧ (на 9,7 %), збільшення концентрації фібриногену (на 203 %) та агрегації тромбоцитів (на 19,3 %) при порівнянні груп хворих на ХТБ на момент госпіталізації та через два місяці після початку лікування з контрольною групою відповідно (Рис. 3.6).

Таблиця 3.4.

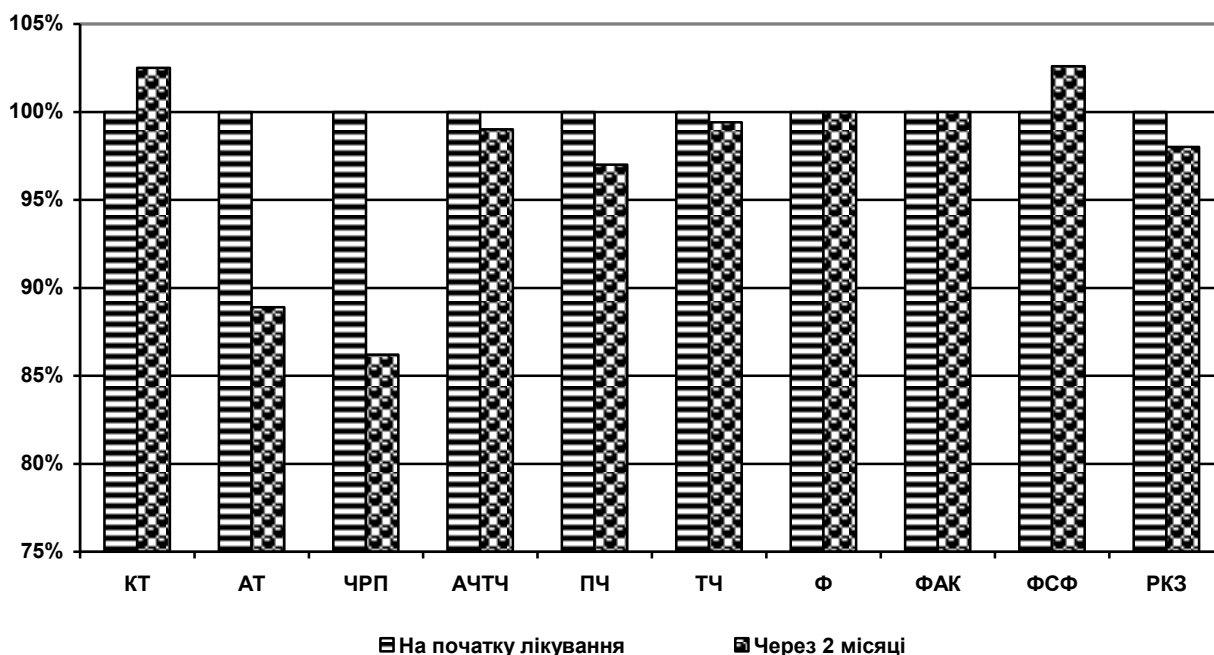
Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі хворих на ХТБ та у контрольній групі ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	Хворі на ХТБ	
			На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
			N=40	N=25
1	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$286,4 \pm 22,8$	$293,5 \pm 19,7$
2	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$45,8 \pm 15,7^1$	$40,7 \pm 7,3$
3	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$136,5 \pm 43,9$	$117,7 \pm 25,7$
4	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$64,2 \pm 7,6^1$	$63,5 \pm 5,9^2$
5	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,9 \pm 2,6^1$	$16,4 \pm 2,0$
6	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,4 \pm 2,1$	$16,3 \pm 1,9$
7	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,1 \pm 1,9^1$	$6,1 \pm 1,9^2$
8	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$173,3 \pm 23,8$	$173,2 \pm 10,6^3$
9	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$69,6 \pm 11,9$	$71,4 \pm 10,1$
10	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$40 \pm 6 \%$	$39 \pm 5 \%$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.



Примітки: * - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та через два місяці; значення показників групи на початку лікування прийнято за 100% ; $p < 0,05$.

Рис. 3.6. Зміни гемокоагуляційних показників хворих на ХТБ.

У групі хворих на інші форми туберкульозного процесу, не зважаючи на нечисленну кількість досліджених пацієнтів, було отримано багато статистично вірогідних даних, що дозволяють більш чітко охарактеризувати характер змін стану системи гемостазу у хворих. У даній групі хворих спостерігається тенденція наростання з часом змін показників в системі гемостазу, що відповідає прокоагуляційному зрушенню та уповільненню фібринолізу (Табл. 3.5).

При проведенні порівняльного аналізу характеру змін гемокоагулологічних показників між різними типами випадку туберкульозного процесу було виявлено статистично вірогідне скорочення часу рекальцифікації плазми крові в групі хворих на МРТБ, порівняно з збільшення рівня РКЗ у групою хворих на ВДТБ (Рис. 3.7).

Таблиця 3.5.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі хворих на інші форми туберкульозу та у контрольній групі ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	Хворі на інші форми	
			На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
			N=40	N=10
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$275,3 \pm 19,5^1$	$284,2 \pm 24,3^{2,3}$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$42,8 \pm 7,5$	$45,7 \pm 7,8^2$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$140,5 \pm 32,1$	$106,6 \pm 20,5^{2,3}$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$64,1 \pm 8,7^1$	$68,4 \pm 3,6^2$
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$17,8 \pm 1,9^1$	$17,8 \pm 1,5^2$
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$17,8 \pm 1,7^1$	$17,8 \pm 1,4$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,1 \pm 2,9^1$	$5,6 \pm 2,0^2$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$176,6 \pm 19,0$	$184,1 \pm 6,4^{2,3}$
9.	Фібринстабілізуєчий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$140,5 \pm 32,1$	$106,6 \pm 20,5^{2,3}$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$45 \pm 9 \%^1$	$36 \pm 4 \%^3$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Також в групі хворих на МРТБ було виявлено вірогідне збільшення рівня інтенсивності ретракції кров'яного згустку порівняно з групою хворих з іншими типами випадку туберкульозу (Рис. 3.7). Вказані зміни можуть свідчити про те, що в групі хворих на МРТБ більш інтенсивно перебігають процеси згортання крові, ніж в групі хворих на ВДТБ та інших типів випадку туберкульозу.

Статистично вірогідних асоціацій між іншими формами туберкульозного процесу виявлено не було.

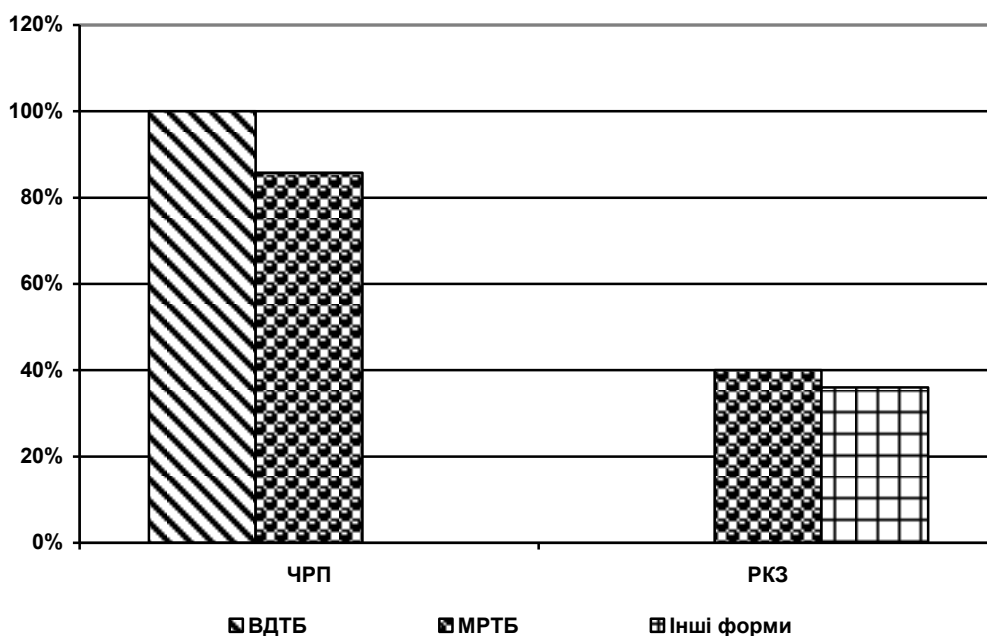


Рис. 3.7. Статистично вірогідні зміни коагулологічних показників різних типів випадку туберкульозного процесу.

Таким чином, аналіз даних коагулологічних показників групи хворих на туберкульоз виявив порушення в судинно-тромбоцитарній, коагуляцій та фібринолітичній ланках гемостазу, що носить різно направлений характер.

У хворих в динаміці перебігу туберкульозного процесу було виявлене порушення коагуляційної та фібринолітичної ланок системи гемостазу, що проявляється в прокоагуляційному зрушенні й пригніченні фібринолізу.

Активация згортальної системи відповідає патогенезу туберкульозу, який є інфекційним процесом, що супроводжується вираженим інтоксикаційним синдромом. Гальмування фібринолітичної системи може бути пояснене пригнічуючою дією власних інгібіторів фібринолізу [174].

Окремо слід звернути увагу на різноспрямованість деяких показників коагуляційного гемостазу у хворих на туберкульоз, а саме АЧТВ, ПЧ та ТЧ.

Встановленим і, зокрема, підтвердженим результатами проведеного дослідження, є факт про наявність у хворих на туберкульоз прокоагуляційного зсуву та пригнічення фібринолізу, що з часом може набувати характер латентного дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ) крові. Згідно патогенезу ДВЗ-синдрому, перша стадія цього процесу супроводжується активацією згортальної системи, що проявляється в гіперкоагуляційному зрушенні. Активация згортальної системи призводить до каскадної активації протизгортальної системи, а згодом до її виснаження. Друга стадія ДВЗ-синдрому супроводжується коагулопатією виснаження, що з боку гемостатичної системи супроводжується зниженням активності та кількості більшості плазмових факторів згортання крові та кількості тромбоцитів. На нашу думку, враховуючи виснажливий характер перебігу туберкульозного процесу, у хворих на певній стадії захворювання може розвиватися синдром латентного внутрішньосудинного згортання крові, що супроводжується коагулопатією споживання, тому частина показників, що характеризують плазмовий гемостаз будуть підвищеними, частина – зниженими, що і зумовлює їх різноспрямованість.

3.2. Особливості показників системи гемостазу в залежності від патофізіологічних особливостей перебігу туберкульозного процесу

Визначення порушень в системі гемостазу у хворих на туберкульоз є вкрай важливим для вивчення патофізіологічних механізмів патологічного процесу, що відбувається у хворого на даному етапі захворювання з метою побудови аргументованого алгоритму подальшого перебігу захворювання, своєчасного виявлення ускладнень з боку інших систем органів та адекватного лікування.

Нами було встановлено, що у хворих на туберкульоз спостерігається прокоагуляційне зрушення на тлі пригнічення фібринолізу. Результати дослідження співпадають з раніше отриманими результатами [40-44]

Активація імунного статусу організму у відповідь на патоген неодмінно змінює функціональну активність гемостатичної системи [18,25,28,29,35]. На перебіг запальних реакцій впливають багато чинників, що зумовлюють варіабельність прояву клінічних форм туберкульозу, інтенсивність перебігу, чутливість до лікування, темпи одуження хворих тощо. Тому вивчення особливостей змін показників системи гемостазу у хворих в залежності від патогенетичних особливостей туберкульозного процесу є важливим.

Всі пацієнти були розподілені на групи в залежності від: клінічної та диспансерної категорії обліку хворих: кат 1, кат 2, кат 4; наявності/відсутності деструктивних процесів в легенях (Дестр + - наявна деструкція, Дестр - - немає деструкції), позитивного/негативного результату бактеріологічного дослідження (МБТ+ або МБТ-), позитивного/негативного результату дослідження мазка на кислотостійкі бактерії (М+ або М-), позитивного/негативного результату культурального дослідження (К+ або К-) та наявності/відсутності резистентності мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів (ПТП) (Резист+ або Резист-). До групи з

Резист+ були віднесені всі пацієнти, у яких виявлялась резистентність до хоча б одного з ПТП I або II ряду.

Незалежно від обраної групи у хворих на легеневий туберкульоз переважали ознаки гіперкоагуляції з пригніченням активності фібринолітичної системи крові. Разом з тим, в кожній з груп спостерігались певні особливості показників системи гемостазу.

В групі пацієнтів кат 1 на момент госпіталізації спостерігалось статистично вірогідне збільшення рівня КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ та Ф у порівнянні з контрольною групою.

Через два місяці після початку курсу стандартизованої хіміотерапії ці показники залишались підвищеними. Одночасно виявлялось вірогідне пригнічення ФСФ у порівнянні з контролем та покращання РКЗ порівняно зі станом на початку лікування. Ця ситуація може свідчити про наявність у хворих на момент госпіталізації гіперкоагуляційного стану, що супроводжується в динаміці з пригніченням активності фібринолітичної системи (Табл.3.6).

У хворих кат 2 на госпіталізаційному етапі спостерігалось статистично вірогідне подовження рівня АЧТЧ, ПЧ та збільшення Ф. Через два місяці в цій групі виявлялось вірогідне підвищення КТ. У порівнянні з контрольною групою виявлялось збільшення рівня АТ, АЧТЧ, Ф та зниження ФСФ, так само як і у хворих кат 1. Ця може свідчити про хронізацію туберкульозного процесу, наростання гіперкоагуляційного потенціалу та пригнічення активності фібринолітичної системи у хворих після двохмісячного курсу стандартизованої хіміотерапії (Табл. 3.7).

Таблиця 3.6.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у контрольній групі та у групі пацієнтів кат 1 ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$320,7 \pm 127,4^1$	$324,1 \pm 82,8^2$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$44,8 \pm 12,2^1$	$42,8 \pm 8,9^2$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$131,9 \pm 33,4$	$132,7 \pm 29,1$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$62,4 \pm 9,4^1$	$64,8 \pm 5,5^2$
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,8 \pm 2,7^1$	$16,7 \pm 2,3^2$
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,7 \pm 2,6$	$16,7 \pm 2,3$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,3 \pm 2,2^1$	$5,5 \pm 1,4^2$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$173,6 \pm 16,3$	$176,7 \pm 14,5$
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$69,4 \pm 10,6$	$73 \pm 9,7^2$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$42 \pm 8 \%$	$38 \pm 6 \%^3$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Таблиця 3.7.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у контрольній групі та у групі пацієнтів кат 2 ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$281,9 \pm 78,2$	$363,2 \pm 65,8^{2,3}$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$42 \pm 13,6$	$43 \pm 8,6^2$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	129 ± 38	$118,6 \pm 23,4$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$62,4 \pm 9,1^1$	$63,1 \pm 6,6^2$
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,8 \pm 2,4^1$	$16,5 \pm 2,0$
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,8 \pm 2,5$	$16,5 \pm 2,0$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,2 \pm 2,3^1$	$5,1 \pm 2,2^2$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$173,3 \pm 25,4$	$177,8 \pm 16,1$
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$69,5 \pm 12,3$	$75,5 \pm 10,5^2$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$42 \pm 8 \%$	$41 \pm 4 \%$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Аналіз результатів показників гемокоагулограми групи пацієнтів кат 4 виявив вірогідне підвищення рівня АЧТЧ, ПЧ та Ф на початку лікування. Через два місяці - лише вірогідне підвищення КТ та Ф у порівнянні з контролем. Інші

показники проявили загальну тенденцію до зниження в динаміці, крім ФА, але не виявили статистично вірогідних асоціацій (Табл. 3.8). Це може свідчити про більш швидку здатність системи крові пацієнтів кат 4 до зниження рівня показників до таких, що дорівнюють показникам контрольної групи.

Таблиця 3.8.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у контрольній групі та у групі пацієнтів кат 4 ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$259,5 \pm 23,4$	$253,8 \pm 85,8$	$296,7 \pm 23,2$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	$38,4 \pm 6,6$	$42,2 \pm 6,2$	$37,4 \pm 9,7$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	$137,1 \pm 36,7$	$131,8 \pm 38,6$	$107,1 \pm 18,2$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	$58,6 \pm 6,4$	$63,3 \pm 8,7^1$	$61,1 \pm 8,3$
5.	Протромбіновий час, с	$15,4 \pm 2,0$	$16,9 \pm 2,9^1$	$15,4 \pm 2,6$
6.	Тромбіновий час, с	$16,6 \pm 8,3$	$16,7 \pm 3$	$15,5 \pm 2,5$
7.	Фібриноген, г/л	$3,0 \pm 1,0$	$6,5 \pm 1,6^1$	$4,6 \pm 2,3$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	$170,8 \pm 12,4$	$172,3 \pm 16,3$	$170,7 \pm 17,8$
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	$66,4 \pm 9,9$	$67,9 \pm 10,4$	$69,9 \pm 11,6$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	$40 \pm 6 \%$	$43 \pm 6 \%$	$39 \pm 7 \%$

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Слід також зазначити, що між групами хворих кат 1, кат 2 та кат 4 не було виявлено статистично вірогідних змін показників гемокоагулограми ні до, ні через два місяці після початку медикаментозного лікування.

Таблиця 3.9.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі хворих з наявною деструкцією ($M \pm \sigma$).

№ п.п	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	304,3 \pm 120,4 ₁	340,8 \pm 73,3 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	43,8 \pm 11,8 ¹	41,3 \pm 8
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	127,6 \pm 34,9	124 \pm 23,2
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	61,9 \pm 9,1 ¹	63 \pm 5,3
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,7 \pm 2,5 ¹	16,3 \pm 1,8 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,6 \pm 2,5	16,2 \pm 1,7
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,5 \pm 2,1 ¹	5,4 \pm 1,6 ^{2,3}
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	172,2 \pm 19,9	175,2 \pm 14,1
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	69,1 \pm 11,3	72,4 \pm 9,6 ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	42 \pm 7 %	39 \pm 5 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку

Порівняльний статистичний аналіз груп пацієнтів в залежності від наявності або відсутності деструктивних процесів в легенях (Див. табл. 3.9).– Дестр+ та Дестр- - виявив статистично вірогідне збільшення рівня КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ та Ф у порівнянні з контрольною групою до початку курсу хіміотерапії. Через два місяці у хворих зберігалось вірогідне погіршення рівня Ф, не зважаючи на його тенденцію до зниження, та збільшення рівня ФСФ. У порівнянні з контролем, у групі з Дестр+ нарівні з погіршенням рівня КТ, ПЧ та Ф, відбувалось збільшення рівня ФСФ.

Характер змін рівня коагулогічних показників у групі хворих з Дестр- на момент госпіталізації співпадає з рівнем показників групи Дестр+, за винятком АТ та подовження часу ФАК у порівнянні з контрольною групою. В динаміці не відбулось вірогідної зміни показників в цій групі. Порівняння з контрольною групою виявило вірогідне збільшення КТ, АТ, АЧТЧ, Ф та ФСФ. (Табл.3.10).

Аналіз результатів показників групи хворих з МБТ+ на початку лікування виявив вірогідне збільшення рівня КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ, у порівнянні з контролем. Після курсу хіміотерапії зберігалось вірогідне порушення рівня Ф, незважаючи на тенденцію до зниження, зменшення фібриназної активності та інтенсивності РКЗ. При порівнянні з контролем нарівні з такими самими показниками до початку лікування, було відмічене пригнічення ФАК та зниження ФСФ (Табл. 3.11).

У групі з МБТ- було виявлене вірогідне підвищення АТ, ПЧ, Ф та пригнічення ФАК на початку лікування. Двохмісячне спостереження не виявило вірогідних змін показників. У порівнянні з контролем зберігалась вірогідна асоціація збільшення АЧТЧ та Ф (Табл. 3.12).

Порівняльний аналіз показників груп хворих з МБТ+ та МБТ- виявив вірогідне зменшення рівня Ф на початку лікування у групі хворих з МБТ-.

Таблиця 3.10.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі хворих без деструкції ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	298 \pm 82,6 ¹	326,8 \pm 94,9 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	43,6 \pm 13,6	45,2 \pm 10,9 ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	145,4 \pm 33,8	121,3 \pm 32,5
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	66,6 \pm 9 ¹	66,3 \pm 8,4 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	17,4 \pm 3,2 ¹	17 \pm 2,7
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	17,4 \pm 3,2	17 \pm 2,7
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	5,5 \pm 2,1 ¹	5,4 \pm 2,6 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	179,9 \pm 13,2 ¹	180,1 \pm 15,3
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	71,8 \pm 9,5	77,1 \pm 10,1 ²
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	4 \pm 1 %	44 \pm 8 %	42 \pm 9 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

лікування та контрольною групою; $p < 0,005$.

Таблиця 3.11.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з позитивним результатом бактеріологічного дослідження ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	308,3 \pm 116,3 ¹	342,6 \pm 73,6 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	43,4 \pm 11,9 ¹	42,1 \pm 8,5 ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	131,6 \pm 34,3	125,9 \pm 29,8
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	62,6 \pm 9,2 ¹	63,5 \pm 5,5 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,7 \pm 2,6 ¹	16,5 \pm 2,1 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,6 \pm 2,7 ¹	16,5 \pm 2,1 ²
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,4 \pm 2,1	5,3 \pm 1,9 ^{2,3}
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	172,4 \pm 19,3	177,3 \pm 15 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	68,8 \pm 10,9	73,9 \pm 9,9 ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	43 \pm 7 %	39 \pm 6 % ³

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Таблиця 3.12.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з негативним результатом бактеріологічного дослідження ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	245,5 \pm 59,8	293 \pm 74,7
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	45,7 \pm 12,6 ¹	43,9 \pm 11,1
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	127,2 \pm 41,9	125,7 \pm 9,1
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	61,9 \pm 9,2	66,2 \pm 8,7 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	17,6 \pm 2,5 ¹	16,8 \pm 2,8
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	17,5 \pm 2,4	16,8 \pm 2,8
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	5 \pm 1,7 ¹	5,3 \pm 1 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	180,3 \pm 15,4 ¹	172,1 \pm 16
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	72,6 \pm 11,7	71,4 \pm 11,2
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	40 \pm 8 %	36 \pm 5 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Результати аналізу стану системи гемостазу у хворих з Резист+ на

початку лікування, як і в попередніх групах, виявили підвищення КТ, ПЧ та Ф. Пригнічення ФСФ в динаміці. Підвищення КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ, Ф та пригнічення ФАК і ФСФ у порівнянні з контролем (Табл. 3.13).

Таблиця 3.13.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з резистентністю ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	312,7 \pm 92,6 ¹	353,6 \pm 65,5 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	40,9 \pm 10,3	43,9 \pm 8,8 ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	137,6 \pm 32,2	123,2 \pm 35,5
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	61,8 \pm 9	63,9 \pm 6,6 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,7 \pm 2,7 ¹	16,8 \pm 2,6 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,7 \pm 2,7	16,8 \pm 2,5
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,4 \pm 1,9 ¹	5,4 \pm 2,3 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	168,5 \pm 20,9	179,2 \pm 16,2 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	66,7 \pm 10,4	74,5 \pm 11,4 ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	43 \pm 7 %	41 \pm 6 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Група з Резист- відрізнялась наявністю вірогідного підвищення АТ на момент початку лікування у порівнянні з контролем. В динаміці відбулось пригнічення ФАК. Через два місяці також зберігалось підвищення рівня КТ, АЧТЧ, ПЧ, Ф, ФАК та ФСФ у порівнянні з контрольною групою (Табл. 3.14).

Таблиця 3.14.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів без резистентності ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	316,8 \pm 95,3 ¹	341,2 \pm 52,6 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	45,1 \pm 14,1 ¹	43 \pm 10,1
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	116,4 \pm 26,7	120,5 \pm 15,9
4.	Активованний частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	62,4 \pm 12,1	65 \pm 5,2 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,8 \pm 3,6	17 \pm 2,3 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,6 \pm 3,5	17 \pm 2,3
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,6 \pm 2,7 ¹	6,3 \pm 1,5 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	169,4 \pm 12	182 \pm 14,7 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	66,6 \pm 8,5	77,3 \pm 7,8 ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	41 \pm 8 %	39 \pm 5 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Слід зауважити, що міжгруповий порівняльний аналіз стану гемопоказників виявив вірогідне зниження активності ФСФ у хворих з Резист-.

У групі пацієнтів з М+, як і в інших групах, на початку лікування спостерігалось вірогідне збільшення рівня КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ, Ф та РКЗ. Через два місяці зберігалось вірогідне підвищення Ф та РКЗ, незважаючи на поступове зниження. Порівняння показників цієї групи з контрольною виявило підвищення КТ, АЧТЧ, Ф та пригнічення ФСФ (Табл. 3.15).

Таблиця 3.15.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з позитивним результатом дослідження мазка на кислотостійкі бактерії ($M \pm \sigma$).

№ п. п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	310,4 \pm 123,1 ¹	349,2 \pm 70,4 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	44,9 \pm 12 ¹	41,1 \pm 7,3
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	133 \pm 34,4	123,6 \pm 25,7
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	63 \pm 9,2 ¹	62,9 \pm 3,5 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	17,1 \pm 2,7 ¹	16,2 \pm 1,6
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	17 \pm 2,8	16,2 \pm 1,6
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,6 \pm 2,1 ¹	5,5 \pm 1,4 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	172,7 \pm 19,6	176 \pm 13,5
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	69,6 \pm 11,1	73 \pm 8,9 ²
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	0,43 \pm 0,08 ¹	0,39 \pm 0,05

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою. 2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою; 3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

Характер змін у групі пацієнтів з М- виявив вірогідне збільшення АЧТЧ, ПЧ та Ф, на момент госпіталізації у порівнянні з контролем. Після курсу хіміотерапії не було виявлене статистично вірогідних асоціацій. Але у порівнянні з контролем, в цій групі зберігалось вірогідне підвищення КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ, Ф та пригнічення ФСФ (Табл. 3.16).

Таблиця 3.16.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з негативним результатом дослідження мазка на кислотостійкі бактерії ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	На початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	290,8 \pm 101,1	324,9 \pm 78,2 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	42,4 \pm 11,9	43,5 \pm 9,9 ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	129,1 \pm 36	127,8 \pm 29,4
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	62,1 \pm 9,1 ¹	64,8 \pm 7,6 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,5 \pm 2,5 ¹	16,8 \pm 2,6 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,4 \pm 2,5 ¹	16,8 \pm 2,6 ²
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6 \pm 2,1	5,1 \pm 2
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	174 \pm 18,4	177 \pm 16,5 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	68,8 \pm 11	74 \pm 11
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	41 \pm 7 %	39 \pm 7 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою; $p < 0,05$.

У групі пацієнтів з К+ на початку лікування відбувалось також вірогідне підвищення КТ, АЧТЧ, ПЧ та Ф у порівнянні з контролем. В динаміці спостерігалось вірогідне пригнічення ФА. Через два місяці виявлялось підвищення КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ, Ф та пригнічення ФАК, ФСФ, у порівнянні з контролем (Табл. 3.17).

Таблиця 3.17.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з позитивним результатом культурального дослідження ($M \pm \sigma$).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 \pm 23,4	302,2 \pm 85,3 ¹	332,6 \pm 42,1 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 \pm 6,6	41,7 \pm 11,5	44,7 \pm 7,7 ²
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 \pm 36,7	131,3 \pm 36,6	121,4 \pm 23,1
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 \pm 6,4	62,1 \pm 9,6 ¹	66,8 \pm 4,1 ²
5.	Протромбіновий час, с	15,4 \pm 2,0	16,9 \pm 2,9 ¹	17 \pm 1,6 ²
6.	Тромбіновий час, с	16,6 \pm 8,3	16,8 \pm 2,9 ¹	16,9 \pm 1,5 ²
7.	Фібриноген, г/л	3,0 \pm 1,0	6,5 \pm 2,4	5,2 \pm 2,1 ²
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 \pm 12,4	170,8 \pm 18,8	181,3 \pm 12,9 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 \pm 9,9	67,8 \pm 10,4	77,2 \pm 8,5 ^{2,3}
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 \pm 1 %	44 \pm 7 %	41 \pm 7 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою;

3. ³ - в групі хворих на початку лікування та через 2 міс. після початку лікування; $p < 0,05$.

У групі хворих з K-, так само як і в групі з K+, відбувалось підвищення рівня КТ, АТ, АЧТЧ, ПЧ та Ф на початку лікування. В динаміці вірогідних змін знайдено не було. Через два місяці у порівнянні з контролем зберігалось підвищення рівня КТ, Ф та ФСФ (Табл. 3.18).

Таблиця 3.18.

Показники тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у групі пацієнтів з негативним результатом культурального дослідження (М ± σ).

№ п.п.	Показник	Контрольна група	До початку лікування	Через 2 міс. після початку лікування
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	259,5 ± 23,4	318,3 ± 109 ¹	385,2 ± 74,5 ²
2.	Агрегація тромбоцитів, с	38,4 ± 6,6	43,7 ± 12,1 ¹	41,6 ± 10,4
3.	Час рекальцифікації плазми, с	137,1 ± 36,7	130 ± 32,7	129 ± 31,5
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	58,6 ± 6,4	63,4 ± 9,7 ¹	62,5 ± 7
5.	Протромбіновий час, с	15,4 ± 2,0	16,8 ± 2,9 ¹	16,7 ± 3
6.	Тромбіновий час, с	16,6 ± 8,3	16,7 ± 2,8 ¹	16,7 ± 3 ²
7.	Фібриноген, г/л	3,0 ± 1,0	6,4 ± 2	5,7 ± 1,9
8.	Фібринолітична активність крові, хв	170,8 ± 12,4	172,6 ± 20,7	177,9 ± 17,3 ²
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	66,4 ± 9,9	69,5 ± 11,1	73,5 ± 11,6
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	40 ± 1 %	41 ± 8 %	40 ± 4 %

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих на початку лікування та контрольною групою.

2. ² - між групою хворих через 2 міс. після початку лікування та контрольною групою; $p < 0,05$.

Таким чином, порівняльний статистичний аналіз отриманих результатів змін гемокоагулологічних показників у різних групах хворих до та через два місяці після початку стаціонарного лікування і у порівнянні з результатами коагулограми здорових людей, підтвердив у всіх групах пацієнтів наявність активації процесу гемостазу, що відображається у прокоагуляційному зрушенні та поєднується з пригніченням фібринолітичної активності крові, що може пояснюватись тим, що компенсаторна мобілізація плазмінової (фібринолітичної) системи кількісно відстає від випереджаючого росту активності своїх власних інгібіторів [49]

Через два місяці після курсу стандартизованої хіміотерапії у хворих виявлялось вірогідне пригнічення активності фібринолітичної системи крові. Отримані результати співпадають з даними дослідження стану системи гемостазу, що були отримані в НДІ туберкульозу РАМН в попередні роки. Цікавим для розуміння патофізіологічного механізму патологічного процесу є результати міжгрупового порівняльного аналізу груп хворих з МБТ+ та МБТ- (що відрізняються за рівнем Ф), з Дестр+ та Дестр- (що відрізняються за рівнем ФАК) та Резист+ і Резист- (що відрізняються за активністю ФСФ). У групі хворих з МБТ+ був виявлений вірогідно більш високий рівень Ф ($6,4 \pm 2,1$), ніж у МБТ- ($5,0 \pm 1,7$). У групі хворих з Дестр- підвищений рівень ФАК, що відповідає зниженню активності показника ($179,9 \pm 13,2$), ніж у хворих з Дестр+ ($172,4 \pm 19,3$). У групі з Резист- спостерігалось вірогідне зниження активності ФСФ ($77,3 \pm 7,8$), ніж у групі з Резист+ ($74,5 \pm 11,4$).

Асоціація позитивного результату бактеріологічного дослідження з високим вмістом загального фібриногену у хворих може бути пояснена тим, що згідно даних літературних джерел мікобактерії туберкульозу активно розмножуються в смужках фібрину. Враховуючи той факт, що у досліджених хворих спостерігалась виражена гіперфібриногенемія на початку та через два місяці після курсу хіміотерапевтичного лікування, можна припустити наявність великої кількості мікобактерій туберкульозу. Відомо, що при

бактеріологічному дослідженні за методом Ціля-Нільсена, мікобактерії виявляються тільки тоді, коли є не менш ніж п'ятдесят тисяч бактеріальних клітин у 1 мл патологічного матеріалу. А кількість мікобактерій, в свою чергу, прямопропорційно пов'язана з активністю туберкульозного процесу, що проявляється в агресивному перебігу та супроводжується розпадом туберкульозних вогнищ і активним бактеріовиділенням [174].

Асоціація зниження активності фібринолітичної активності крові з відсутністю деструктивних процесів в легенях може бути пов'язана з одного боку з тим, що туберкульоз легень у хворих супроводжується наявністю прокоагуляційного зрушення, вираженість якого наростає паралельно важкості туберкульозного процесу. Прокоагуляційне зрушення з часом призводить до розвитку латентно-перебігаючого синдрому внутрішньосудинного згортання крові, що розпочинається з підвищення формування розчинних фібрин-мономерів та поступово перетворюється на процес внутрішньосудинного тромбоутворення. Активність цього процесу залежить від вираженості системної запальної відповіді та ступеню гіперкоагуляції. Активація згортальної системи крові зумовлює компенсаторну активацію фібринолітичної системи, що проявляється в інтенсифікації процесів перетворення неактивного плазміногену в активний плазмін, який лізує фібрин-полімерні згустки. Але слід враховувати той факт, що резервні можливості цієї системи є обмеженими. Рівень плазміногену досягає свого максимуму та далі не збільшується, що може бути пояснене зростаючим споживанням фібринолітичних факторів. Паралельно з активацією фібринолітичної системи відбувається активація антифібринолітичної системи у вигляді випереджаючої дії інгібіторів активаторів плазміногену і має більш стійкий характер, ніж активація фібринолізу [26,32,34,41].

Зазначені зміни з другого боку супроводжуються паралельним процесом деструктивних змін легеневої тканини. Згідно патогенезу туберкульозного процесу, функціональний стан паренхіматозних клітин у зоні туберкульозного

вогнища порушується, що проявляється в їхній дистрофії та деструкції. Знижується резорбтивна функція лімфатичних капілярів, виникають ураження ендотелію судин, що пов'язані з фіксацією на їх базальному шарі циркулюючих імунних комплексів [25,30,33,130,]. Можливо, гальмування фібринолізу створює сприятливі умови для локалізації мікобактерій та упереджує їх десимінацію в організмі хазяїна на початкових стадіях захворювання. Це питання потребує подальшого дослідження

Зниження активності фібринстабілізуючого фактору у хворих без резистентності може бути пояснене тим, що резистентні штами мікобактерій туберкульозу володіють зниженою можливістю до пристосування, у порівнянні з медикаментозно чутливими. В цьому випадку при зазначених порушеннях в системі гемостазу та на тлі призначаємого курсу хіміотерапії, буде знижатись тиск природнього відбору й більший рівень виживаності буде саме у не резистентних штамів [175,176]

Наявність гіперкоагуляції при туберкульозній інфекції можна розцінювати як прояв «синдрому системної запальної відповіді», обов'язковим компонентом якої є активація системи гемостазу та внутрішньосудинного згортання крові різної ступені.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Амосова А. В. Стан системи гемостазу в динаміці перебігу туберкульозного процесу / А. В. Амосова // Одеський медичний журнал. – 2013. – Т. 136, № 2. – С. 33–36.
2. Амосова А. В. Стан системи гемостазу у хворих з різними типами випадку туберкульозу / Ю. І. Бажора, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова // Інтегративна антропологія. – 2013. – Т. 21, № 1. – С. 60–64.

3. Амосова А. В. Щодо стану системи гемостазу у хворих на туберкульозний процес в Одеському регіоні / А. В. Амосова // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для молодих вчених та студентів) : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 165-річчю з дня народження В. В. Підвисоцького, 19–20 квітня 2012 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОНМедУ, 2012. – С. 46.
4. Амосова А. В. Деякі особливості стану системи гемостазу у хворих на туберкульоз Одеського регіону / А. В. Амосова // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2012 : 8-ма міжнар. наук.-практ. конф., 28-30 травня 2012 р., Полтава : матеріали. – Полтава, 2012. – Т. 4. – С. 6–8.

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ
МЕТОДОМ НИЗЬКОЧАСТОТНОЇ ВІБРАЦІЙНОЇ П'ЄЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ
ГЕМОКОАГУЛОГРАФІЇ

Туберкульозна інфекція характеризується комплексом різноспрямованих змін у системі регуляції агрегатного стану крові (РАСК). У клінічній практиці часто й легко діагностуються ускладнення, пов'язані з гіпокоагуляційними станами, такими як кровохаркання, легеневі кровотечі, на відміну від гіперкоагуляційних, які часто залишаються недіагностованими [40,177].

В основі патогенезу туберкульозного процесу лежить розвиток синдрому системної запальної відповіді, яка виступає в ролі тригерного фактора для інтенсифікації коагуляційних механізмів. У хворих на туберкульоз часто спостерігається синдром латентно перебігаючого й/або хронічного дисемінованого внутрішньосудинного згортання. Це може привести до розвитку як тромботичних, так і геморагічних ускладнень [24,33].

Ефективне лікування, а також своєчасне виявлення можливих ризиків розвитку ускладнень цієї патології неможливо без достовірної оцінки стану системи гемостазу у хворих на туберкульоз [49].

Існуючий комплекс стандартних методів дослідження системи гемостазу є трудомістким, багатоетапним і вимагає висококваліфікованої інтерпретації отриманих даних [131]. Групою російських учених розроблений апаратно-програмний комплекс для клініко-діагностичних досліджень реологічних властивостей крові АРП-01М «МЕДНОРД», в якому для оцінки системи РАСК використовується метод низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемокоагулографії (НПГК) [137,137].

Методом НПГК було обстежено 37 хворих на туберкульоз, що

перебували на лікуванні в Одеській обласній протитуберкульозній лікарні. Загальна тривалість перебування хворих на стаціонарному лікуванні становила не менш ніж 2 місяці, середній вік $38,05 \pm 0,65$ років.

Контрольну групу склали здорові особи ($n=14$), обстежені за допомогою стандартної коагулограми та методом НПК у віці від 21 до 27 років.

При порівняльному аналізі показників системи гемостазу з використанням експрес-методу НПК у хворих на туберкульоз було виявлено зрушення у бік помірної гіперкоагуляції й пригнічення фібринолізу, що збігається з отриманими нами раніше даними за допомогою стандартної коагулограми та за даними літератури [39-44].

При використанні методу НПК про помірне гіперкоагуляційне зрушення у хворих на легеневий туберкульоз свідчили достовірне збільшення інтенсивності контактної фази коагуляції на 79,3 %, константи тромбінової активності на 49,0 %, інтенсивності коагуляційного драйву на 90,4 %, амплітуди (на 74,8 %) й часу полімеризації згустку, максимальної щільності згустку (збільшення на 167,9 %) й інтенсивності тотального згортання (збільшення на 139,0 %). У фібринолітичній ланці було виявлене статистично достовірне зниження інтенсивності ретракції й лізису згустку (на 83,3 %). Достовірного збільшення часу згортання крові, інтенсивності полімеризації згустку й часу формування фібрин-тромбоцитарної структури згустку виявлене не було (Табл.4.1).

Візуально дані можуть бути представлені у вигляді відповідних графіків (Рис.4.1).

Таблиця 4.1.

Результати дослідження системи гемостазу хворих на туберкульоз методом НПГК ($M \pm m$).

№ п.п	Показник	Здорові особи (n=14)	Хворі на туберкульоз (n=37)
1.	A1	226,36 ± 12,33	134,76 ± 1,84 ¹
2.	t1	0,94 ± 0,04	0,73 ± 0,05 ¹
3.	ІКК	109,11 ± 10,92	22,55 ± 0,78 ¹
4.	КТА	29,40 ± 4,10	43,80 ± 2,31 ¹
5.	t3	7,55 ± 1,30	9,90 ± 0,56
6.	ІКД	29,55 ± 3,61	56,27 ± 2,38 ¹
7.	A4	468,21 ± 27,86	818,46 ± 26,62 ¹
8.	t4	15,62 ± 1,23	20,36 ± 0,57 ¹
9.	ІПЗ	13,78 ± 1,38	13,43 ± 1,28
10.	T	28,69 ± 3,01	25,92 ± 1,55
11.	МА	297,29 ± 33,27	796,32 ± 8,83 ¹
12.	ІТЗ	13,41 ± 0,77	32,05 ± 1,73 ¹
13.	ІРЛЗ	2,34 ± 0,63	0,39 ± 0,05 ¹

Примітка: 1. ¹ – статистично вірогідні відмінності з контрольною групою ($p < 0,01$).

Слід зауважити, що аналіз результатів досліджень даних, отриманих за допомогою методу НПГК в цілому підтвердив результати раніше отриманих нами біохімічних досліджень системи гемостазу за допомогою стандартних коагулогічних методів оцінки. Проте, при дослідженні методом стандартної коагулограми, статистично достовірні зміни показників системи гемостазу були виявлені тільки в коагуляційній ланці, що проявлялося вкороченням ЧРП

(на 32,1 %), підвищенням концентрації фібриногену (на 132,1 %) і збільшенням інтенсивності РКЗ (на 5,1 %) у порівнянні з контрольною групою.

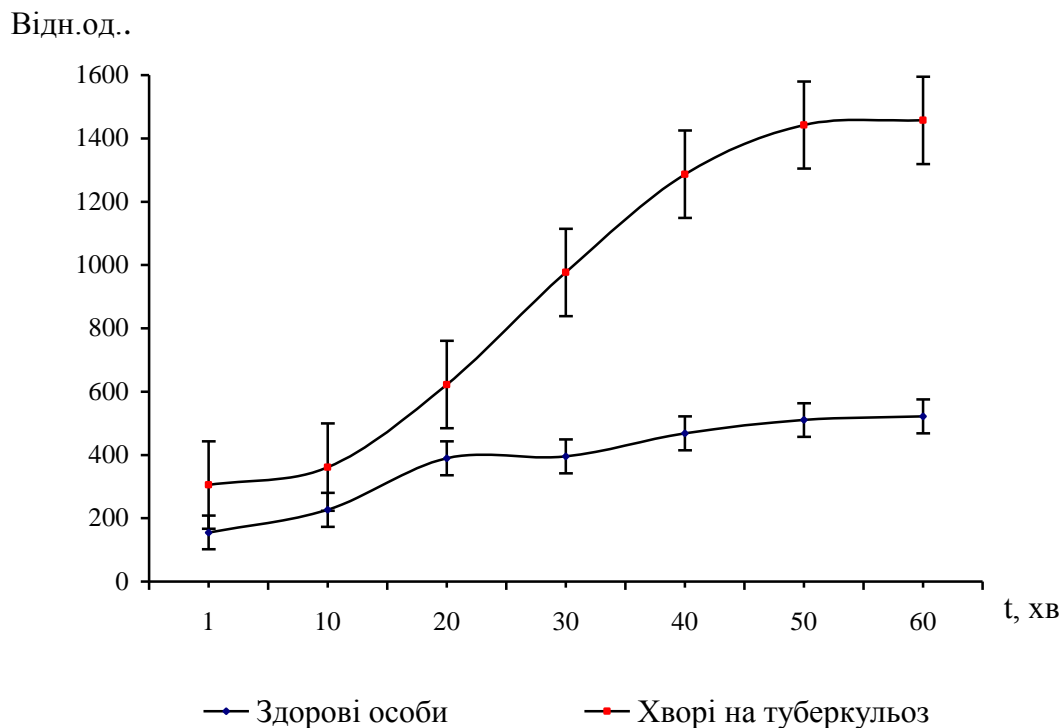


Рис.4.1. Графічне зображення, що відображає стан помірної прокоагуляції й пригнічення фібринолізу у хворих на туберкульоз у порівнянні зі здоровими особами.

У той же час, у вказаній групі хворих спостерігалася тенденція до збільшення спонтанної агрегації тромбоцитів (на 8,2 %), активності ФСФ (на 5,3 %), а також зниження інтенсивності ФАК (на 1,6 %), однак виявлені зміни не були статистично достовірними.

Також, на відміну від результатів, отриманих з використанням методу НПКГ, при стандартному гемокоагулологічному (коагулограмі) не відзначалося статистично достовірної асоціації зміни рівня спонтанної агрегації тромбоцитів, тромбінового часу й АЧТЧ у порівнянні з контрольною групою (Табл.4.2).

Таблиця 4.2.

Результати дослідження системи гемостазу хворих на туберкульоз з використанням стандартних лабораторних методів ($M \pm m$).

№ п.п.	Показник	Здорові особи (n=14)		Хворі на туберкульоз (n=37)	
1.	Кількість тромбоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	266,26	$\pm 8,04$	254,23	$\pm 5,92$
2.	Агрегація тромбоцитів, с	40,34	$\pm 1,31$	43,63	$\pm 1,28$
3.	Час рекальцифікації плазми, с	158,1 ¹	$\pm 6,36$	107,48	$\pm 2,73^1$
4.	Активованій частковий тромбопластиновий час, с	63,02	$\pm 1,22$	64,84	$\pm 0,84$
5.	Протромбіновий час, с	17,26	$\pm 0,41$	17,23	$\pm 0,31$
6.	Тромбіновий час, с	17,19	$\pm 0,38$	17,24	$\pm 0,24$
7.	Фібриноген, г/л	2,77	$\pm 0,16$	6,43	$\pm 0,26^1$
8.	Фібринолітична активність крові, хв	177,75	$\pm 1,88$	180,53	$\pm 2,03$
9.	Фібринстабілізуючий фактор, с	71,91	$\pm 1,48$	75,72	$\pm 1,46$
10.	Ретракція кров'яного згустка, %	39	$\pm 1 \%$	41	$\pm 1 \%^1$

Примітка: 1.¹ – статистично достовірні відмінності з контрольною групою ($p < 0,05$).

Таким чином, при використанні методу НПГК у хворих відзначалися статистично достовірні зміни показників, що характеризують особливості функціонування судинно-тромбоцитарної, плазмової та фібринолітичної ланок

системи гемостазу на початку лікування, на відміну від результатів, отриманих за допомогою стандартної коагулограми. Це дозволяє більш точно діагностувати початкові зміни показників системи гемостазу.

Застосований метод НПК в результаті виявився також більш економічним, високоточним, інформативним методом діагностики, отримані дані було легко інтерпретувати, порушення функціонування гемостатичної системи у хворих можна було виявити на ранніх етапах. Це є важливим, оскільки належна діагностика розладів у системі гемостазу зумовлює їх своєчасну корекцію, що може зменшити кількість небажаних наслідків та полегшити перебіг процесу.

Прокоагуляційні зрушення в системі гемостазу у хворих на туберкульоз мають, імовірно, як позитивне, так і негативне значення. З одного боку, гіперкоагуляція у вогнищі туберкульозного запалення сприяє локалізації інфекції [179], з іншого боку - порушення стану системи гемостазу на рівні організму, особливо в її гемокоагуляційній ланці, у хворих веде до розвитку латентно перебіваючого внутрішньосудинного згортання. Це негативно впливає на перебіг процесу й може зумовити згодом розвиток тромбогеморагічного синдрому [43,48]. Його прояви можуть варіювати від латентно перебігаючих процесів до гострих критичних форм із порушеннями мікроциркуляції, наступним розвитком поліорганної недостатності й (або) кровотеч внаслідок коагулопатії споживання [44,45]. Визначення змін у судинно-тромбоцитарній, коагуляційній і фібринолітичній ланках системи РАСК методом НПК може виступати маркером оцінки стану системи гемостазу й дозволяє діагностувати розвиток ускладнень згортальної крові у хворих на туберкульоз проявів відповідних клінічних симптомів.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Amosova A. V. Estimation of the state of the hemostasis system in

patients with tubercular infection by the method of low-frequency vibration piezoelectric hemocoagulography / Yu. I. Bazhora, A. V. Amosova, O. A. Tarabrin // *China Journal of Modern Medicine*. – 2013. – N. 11. – P. 1–6.

2. Амосова А. В. Аналіз стану системи гемостазу у хворих на туберкульозну інфекцію / Ю. І. Бажора, О. О. Тарабрін, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова // *Клінічна та експериментальна патологія*. – 2013. – Т. XII, № 3 (45). – С. 12–15.

3. Amosova A. V. Features of the hemostasis system state in patients with pulmonary tuberculosis detected by the method of low-frequency vibration piezoelectric hemocoagulography / Yu. I. Bazhora, A. V. Amosova, O. A. Tarabrin, M. M. Chesnokova // *Journal of Health Sciences*. – 2013. – Vol. 3, N. 10. – P. 613 – 624.

4. Амосова А. В. Щодо методів діагностики порушень функціонування системи гемостазу у хворих на туберкульозну інфекцію / А. В. Амосова // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. – 2013. – Додаток № 1. – С. 10. (Медико-соціальні проблеми туберкульозу в Україні : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 18–19 березня 2013 р., Київ : тези).

5. Амосова А. В. Щодо методів визначення стану системи гемостазу у хворих на туберкульозну інфекцію / А. В. Амосова // *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для молодих вчених та студентів) : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної, 14–15 березня 2013 р., Одеса : тези доп.* – Одеса : ОНМедУ, 2013. – С. 36.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ГОМЕОСТАЗУ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

5.1. Характер змін ЛК-спектрів плазми крові в обстежених групах

Методом лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) було досліджено 341 особу, з яких 223 - хворі на туберкульоз до початку стаціонарного лікування, 78 – хворі через два місяці після початку лікування та 40 осіб без верифікованої патології, що складала контрольну групу.

Усереднений ЛК-спектр досліджуваної вибірки був представлений п'ятьма фракціями в залежності від розміру світорозсіювальних частин: I – 1-11 нм, II – 12 – 38 нм, III – 39 – 95 нм, IV – 96 – 264 нм, V > 264 нм. До компонентів I зони відносяться переважно низькомолекулярні мономерні альбулярні білки та вільні гліколіпопротеїдні комплекси. До компонентів II зони – глобулярні білки та низькомолекулярні ліпопротеїнові комплекси. До складу компонентів III зони – високомолекулярні ліпопротеїнові комплекси та низькомолекулярні імунні комплекси. До IV зони віднесені конститутивні імунні комплекси середнього розміру

Специфічний запальний процес і формування імунної відповіді по типу ГВТ, виражена інтоксикація, деструкція тканин при туберкульозі відрізняються активним залученням у боротьбу зі збудником усіх захисних систем організму, включаючи й систему гомеостазу. Така активація, безумовно, приводить до істотних змін різних показників гомеостазу [180].

Численними експериментальними й клінічними дослідженнями

показане, що співвідношення різних біологічних часток (макромолекул, імунних комплексів) плазми крові в нанометровому діапазоні відображає стан гомеостазу внутрішнього середовища організму [55]. При різних захворюваннях залежно від етіологічного фактору, патогенетичних механізмів і тяжкості перебігу хвороби, спостерігаються значні відхилення в співвідношенні таких часток [56,57].

Зазначені порушення детектуються методом лазерної кореляційної спектроскопії. ЛКС-метрія - чутливий метод, що вимагає невелику кількість досліджуваної біологічної рідини. Результати досліджень обробляються автоматично з виводом на моніторі комп'ютера цифрових і графічних даних [158]. Враховуючи це, ми використовували метод ЛКС для з'ясування характеру макромолекулярних зсувів плазми крові в діапазоні від 1 до 10000 нм і зіставлення з показниками системи гемостазу у хворих на туберкульоз.

ЛК-спектри плазми крові здорових осіб характеризуються найбільшим внеском у світлорозсіювання часток від 1 до 100 нм і визначаються, в основному, переважно різними білками, липопротейдними, глікопротейдними й іншими комплексами (Рис. 5.1) [140].

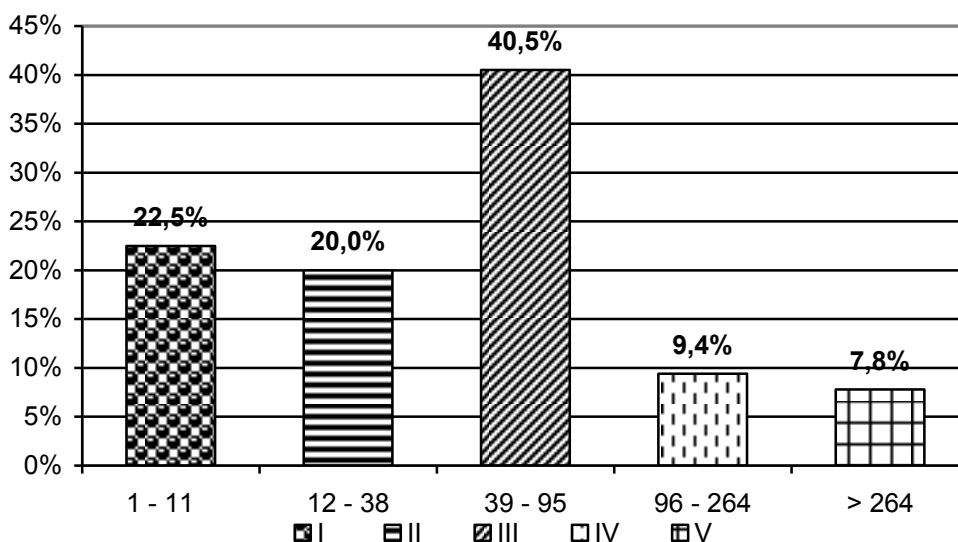
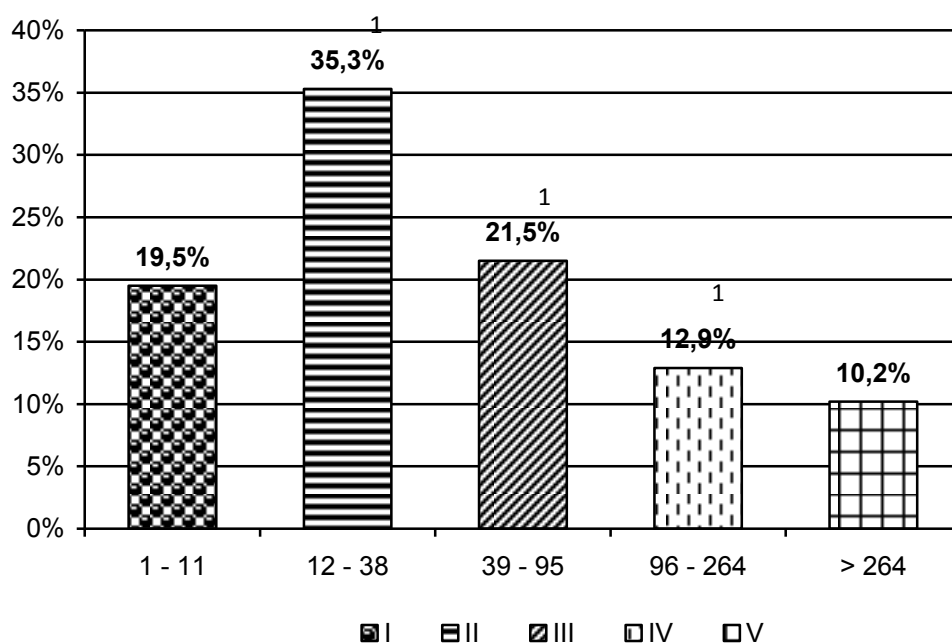


Рис. 5.1. Усереднені ЛК-спектри плазми крові здорових осіб (контрольна група).

Як показали наші дослідження (Рис. 5.2), усереднені ЛК-спектри плазми крові хворих на туберкульоз характеризуються статистично достовірним збільшенням у порівнянні із групою здорових осіб внеску у світлорозсіювання часток у діапазоні 12 – 38 нм ($p < 0,05$) і зменшенням відносного внеску більших часток, особливо в діапазоні від 39 до 95 нм. Зазначені зрушення в ЛК-спектрах хворих на туберкульоз пов'язані з наявністю запального процесу й відповідними імунними реакціями. Формування відповідної реакції організму хворого супроводжується появою в плазмі циркулюючої крові продуктів порушення структури тканин, імунних комплексів. Зазначені зміни не є специфічними. Вони властиві будь-якому захворюванню, що супроводжується запальним процесом і вираженою імунною відповіддю [151].

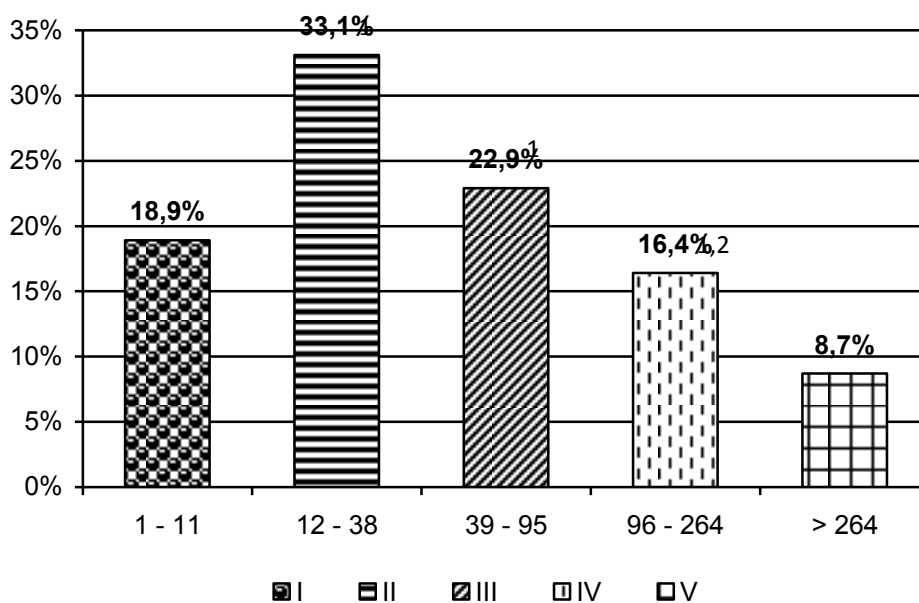


Примітки: 1. ¹ – статистично вірогідні відмінності з контрольною групою;

$p < 0,05$.

Рис. 5.2. Усереднені ЛК-спектри плазми крові хворих на туберкульоз (до початку лікування).

Через 2 місяця після початку специфічної хіміотерапії спостерігалось незначне зниження низькомолекулярних часток світлорозсіювання (від 1 – до 38 нм), особливо в II дискретній зоні (у діапазоні від 12 – до 38 нм) у порівнянні з вихідним рівнем. У порівнянні зі здоровими особами зберігався статистично вірогідно високий рівень часток зазначеного розміру ($p < 0,05$). При цьому відзначалося наростання, у порівнянні з початковим рівнем, кількості багатомолекулярних часток, особливо в діапазоні від 39 – до 264 нм ($p < 0,05$), що найчастіше супроводжує процеси аутоімунізації й алергізації організму (Рис. 5.3) [146,147]. Зазначена спрямованість зсувів ЛК-спектрів, імовірно, пов'язана з ефективністю лікування, що супроводжується адекватною імунною відповіддю на *M.tuberculosis*, для якої характерний, поряд із клітинними реакціями, синтез специфічних антитіл і утворення імунних комплексів. Про це свідчить істотне підвищення внеску у світлорозсіювання часток у діапазоні від 100 – до 250 нм (III дискретної зони) ($p < 0,05$).



Примітки: 1. ¹ – статистично вірогідні відмінності з контрольною групою.
2. ² – статистично вірогідні відмінності між групами хворих, $p < 0,05$.

Рис. 5.3. Усереднені ЛК-спектри плазми крові хворих на туберкульоз (через 2 місяці після початку лікування).

Використовуючи семіотичний класифікатор для аналізу результатів, отриманих за допомогою ЛКС-метрії плазми крові [132], була досліджена спрямованість зсувів у ЛК-спектрах хворих на туберкульоз.

У групи здорових осіб у 82,5% випадків визначалися нормологічні спектри. В інших випадках зрушення носили різноманітний характер, що може бути пов'язане із впливом різних факторів зовнішнього середовища або напругою гомеостатичних механізмів обстежених (Рис. 5.4).

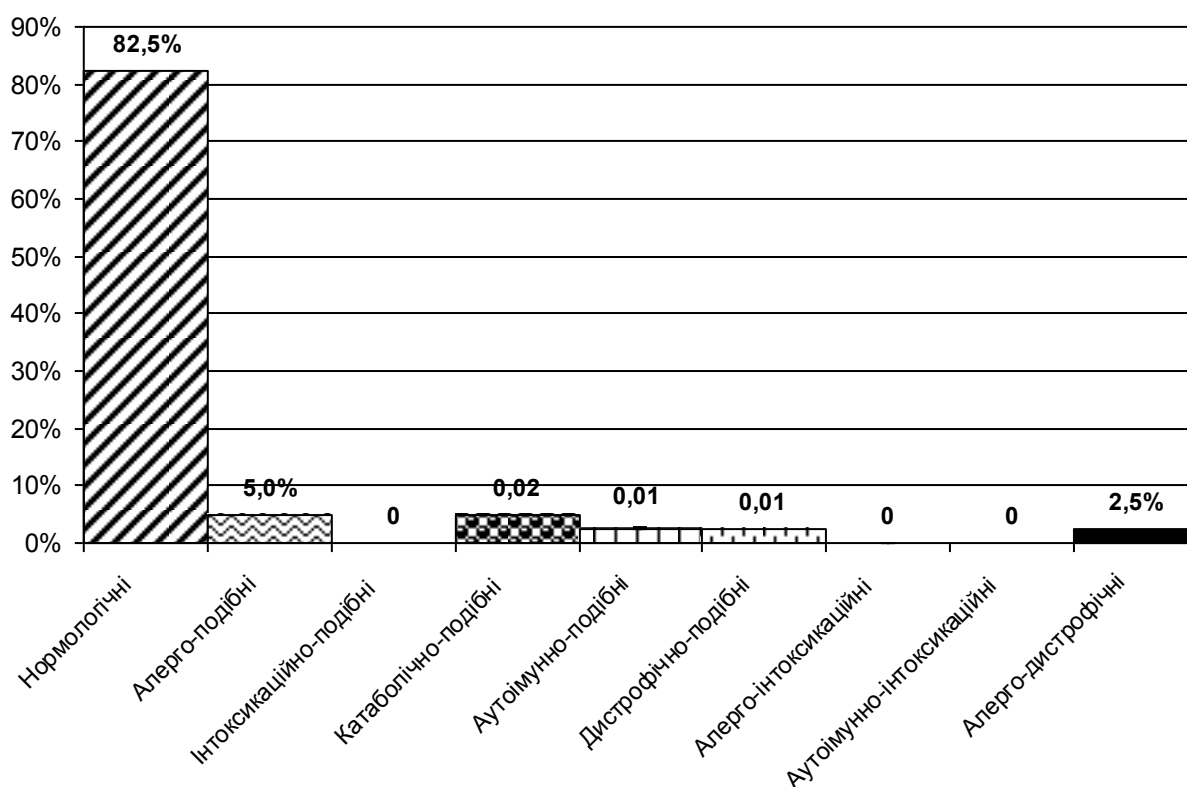


Рис. 5.4. ЛК-спектри плазми крові здорових осіб (контрольна група).

У хворих на туберкульоз майже в половині випадків (43%) у ЛК-спектрах виявлялися інтоксикаційно-подібні зрушення. Значну частину становлять також змішані типи спектрів: алерго-інтоксикаційні (12,7%) і аутоімунно-інтоксикаційні (8,1%). У 14 % хворих у спектрах відзначаються дистрофічно-подібні й у 11,3% катаболічно-подібні зрушення. (Рис. 5.5).

Зазначена спрямованість порушень цілком може бути пояснена з погляду патогенезу туберкульозного процесу, який характеризується вираженою інтоксикацією, викликаною як збудником, так і продуктами розпаду тканин, а також формуванням реакції імунної відповіді по типу гіперчутливості вповільненого типу (ГВТ).

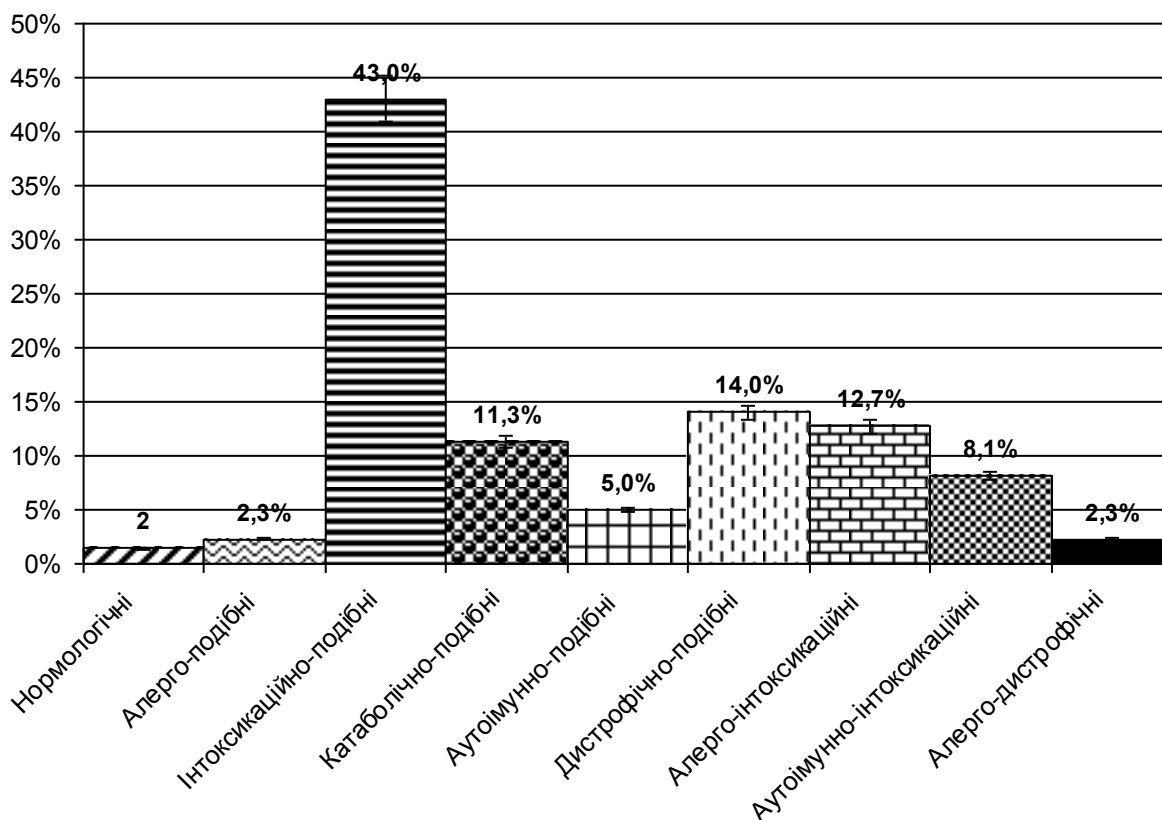


Рис. 5.5. Спрямованість зсувів у ЛК-спектрах плазми крові хворих на туберкульоз (до початку лікування).

Через 2 місяця після початку лікування характер зсувів у ЛК-спектрах плазми крові хворих залишився колишнім, за винятком того, що збільшився відсотковий вклад аутоімунно-інтоксикаційних спектрів (на 7,1 %) і знижувався дистрофічно-подібних (на 4,0 %), що пояснюється продовженням формування імунної відповіді й сталим характером ГВТ. Не можна не брати до уваги

токсичну дію специфічних хіміопрепаратів, що мають, у тому числі, і гепатотропний і нефротропний ефект, що супроводжуються порушенням функції цих органів. Зазначене, імовірно, і пояснює високу частоту зустрічальності інтоксикаційно-подібних зсувів у ЛК-спектрах плазми крові хворих (Рис. 5.6).

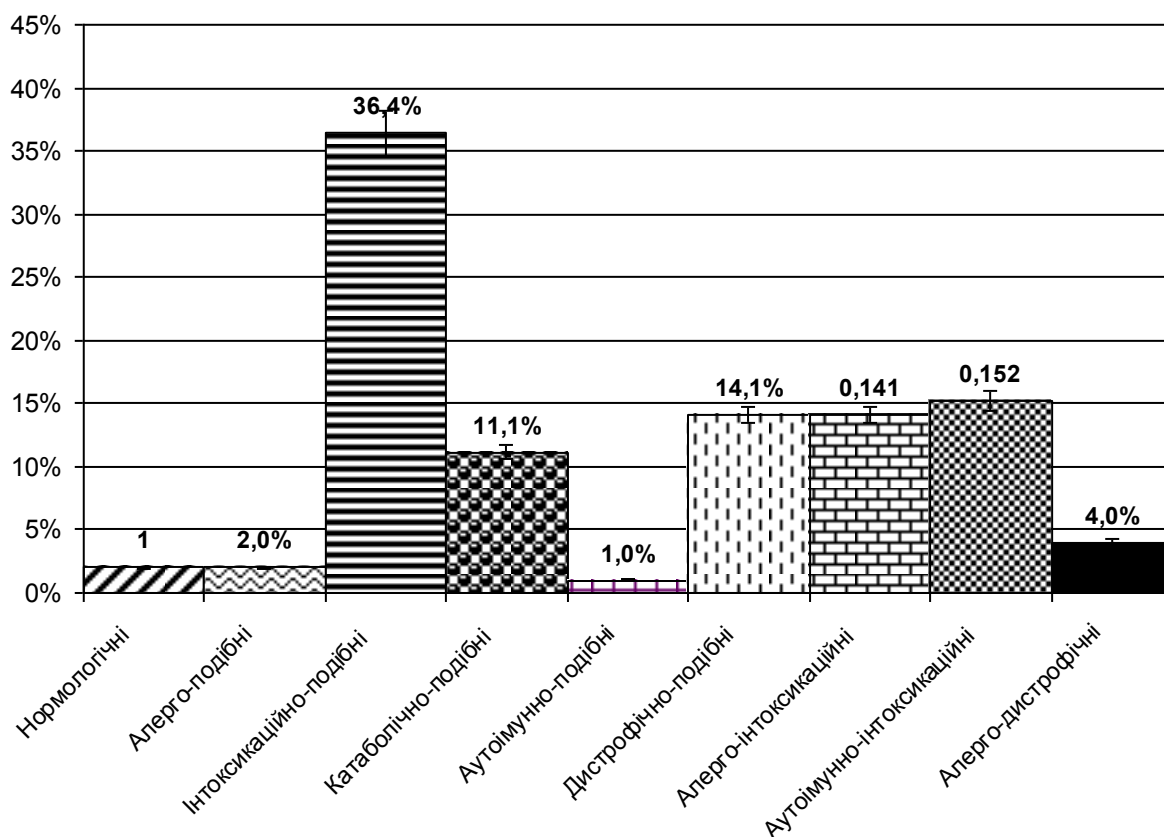


Рис. 5.6. Спрямованість зсувів у ЛК-спектрах плазми крові хворих на туберкульоз (через 2 місяці після початку лікування).

Характер спрямованості зсувів ЛК-спектрів плазми крові супроводжується відповідними змінами в них з певним ступенем виразності: початковою, помірно й вираженою.

У більшій частини (41,3%) обстежених хворих на момент госпіталізації відзначалися інтоксикаційно-подібні зміни стану системи гомеостазу. При цьому в 62,8% хворих – вираженого ступеня, а в 37,2% – помірного. Початкова стадія

виразності інтоксикаційного процесу була відсутня. Залежно від типу туберкульозного процесу, у хворих з вираженими інтоксикаційно-подібними змінами ВДТБ був у 68,5%, МРТБ – у 13%, РТБ – у 7,3%, ІТБ – у 5,6%, ХТБ – у 3,7% і РМРТБ – у 1,9%.

У хворих з помірною інтоксикацією в 53,1% випадків був ВДТБ, 12,5% – ХТБ, 12,4% – МРТБ, 9,4% – РМРТБ, РТБ і ІТБ – по 6,3% у кожній групі.

В 80,6% випадків у даної групи хворих була виявлена деструкція (Дестр+) внаслідок туберкульозного розплавлення тканин, при цьому в 69,5% відзначався туберкульозний процес у фазі інфільтрації, розпаду й обсеменіння, що характеризує активність туберкульозних змін у хворих з різними типами туберкульозу [179]. Етіологічне підтвердження діагнозу за результатами бактеріологічного дослідження (МБТ+) було в 83,3% хворих з інтоксикаційно-подібними змінами. Резистентність до протитуберкульозних препаратів (Резист+) була виявлена лише в 29% хворих даної групи, що супроводжується меншою інтенсивністю згортальної системи у цих хворих, у порівнянні з Резист- і може бути пов'язане зі зниженою пристосовницькою здатністю резистентних штамів *M.tuberculosis* у порівнянні з медикаментозно чутливими [175,176] (Табл. 5.1).

Формування специфічних вогнищ запалення характеризує прагнення організму обмежити поширення *M.tuberculosis*. Такий характер плину запального процесу, з одного боку, сприяє зрушенню системи гемостазу в бік коагуляції з однієї сторони. З іншого боку, підвищення активності й кількості компонентів коагуляційної ланки гемостазу в комбінації зі збільшенням крупнодисперсних часток у плазмі крові також може сприяти підвищенню активності згортальної системи крові, особливо в дрібних судинах легеневої тканини.

Таблиця 5.1.

Частота зустрічаємості інтоксикаційно-подібних змін ЛК-спектрів плазми крові в різних групах хворих на туберкульоз.

Група	Інтоксикаційно-подібний зсув ЛК-спектрів, %
Вираженість симптомокомплексу за даними ЛКС-метрії	
Помірна	37,2%
Виражена	62,8%
Тип випадку туберкульозу	
ВДТБ	68,5%
МРТБ	13%
РТБ	7,3%
ІТБ	5,6%
ХТБ	3,7%
РМРТБ	1,9%
Фаза туберкульозного процесу	
Інфільтрації	52,8%
Обсеменіння	16,7%
Розпаду, рубцювання та ущільнення	30,6%
Характеристика туберкульозного процесу	
МБТ+	83,3%
Наявність деструкції	80,6%
Резистентність	29%

Слід також зазначити, що у всіх обстежених хворих на момент початку курсу хіміотерапії, згідно семіотичного класифікатору, спостерігалася

статистично достовірною перевагою в 68,3% хворих гідролітичних зсувів над змішаними ($\chi^2 = 91,17$, RR = 2,96, p = 0,00, CI = 2,29 – 3,83) і проліферативними ($\chi^2 = 175,41$, RR = 9,44, p = 0,00, CI = 5,84 – 15,26), що говорить про переважання у хворих зазначеної групи інтоксикаційних, катаболічних і дистрофічних процесів (Табл. 5.2). Дана картина відповідає патогенезу туберкульозної інфекції. Також слід зазначити, що в 23,1% хворих змішані зсуви (алерго-інтоксикаційні, аутоімунно-інтоксикаційні й алерго-дистрофічні) переважали над проліферативними ($\chi^2 = 21,55$, RR = 0,31, p = 0,00, CI = 0,18 – 0,53).

Через 2 місяця після початку курсу хіміотерапії у хворих виявлялась тенденція до зниження кількості гідролітичних зсувів (на 6,7%) і збільшенню змішаних – на 10,2%. Це говорить про наростання у хворих з часом аутоімунних і алергоподібних реакцій по типу ГВТ. Проте, рівень гідролітичних зсувів, як і раніше, залишався вірогідно високим у порівнянні зі змішаними ($\chi^2 = 15,88$, RR = 1,85, p = 0,00, CI = 1,34 – 2,54) і проліферативними ($\chi^2 = 27,34$, RR = 6,78, p = 0,00, CI = 2,28 – 20,16).

Таблиця 5.2.

Спрямованість змін системного гомеостазу у хворих на туберкульоз до та через 2 місяця після початку лікування.

Основні напрямки змін системного гомеостазу			
№	Тип ЛК-зсувів	До початку лікування	Через 2 місяці
1.	Гідролітичний	68,3%	61,6%
2.	Проліферативний	7,2%	3,0%
3.	Змішаний	23,1%	33,3%

5.2. Особливості спрямованості ЛК-спектрів в залежності від патофізіологічних особливостей перебігу туберкульозного процесу

Для порівняльного аналізу особливостей спрямованості ЛК-спектрів в залежності від патофізіологічних особливостей перебігу туберкульозного процесу, всі хворі були розподілені на певні групи, в залежності від типу випадку туберкульозного процесу.

Аналіз спрямованості метаболічних зсувів у хворих на туберкульоз залежно від типу туберкульозу, виявив збільшення майже у два рази кількості аутоімунно-інтоксикаційних семіотичних зсувів у хворих на ВДТБ ($\chi^2 = 5,27$, RR = 0,41, p = 0,02, CI = 0,20 – 0,89) наприкінці лікування в порівнянні з вихідним рівнем. Це може свідчити про наростання імунної реактивності у хворих на ВДТБ на тлі наростання інтоксикації організму хворого (Табл. 5.3).

У хворих на РТБ було виявлене статистично достовірне збільшення кількості інтоксикаційно-подібних зсувів (на 50,7%) ($\chi^2 = 5,34$, RR = 0,41, p = 0,02, CI = 0,20 – 0,80) наприкінці курсу хіміотерапії. Також у зазначеній групі було виявлене наростання кількості хворих з переважанням гідролітичних зсувів у цілому ($\chi^2 = 3,98$, RR = 0,6, p = 0,05, CI = 0,42 – 0,86) (Табл. 5.4).

У групі хворих на ХТБ було виявлено статистично достовірне збільшення відсоткового вмісту пацієнтів зі змішаними зсувами системного гомеостазу через 2 місяця після початку лікування ($\chi^2 = 6,79$, RR = 0,19, p = 0,009, CI = 0,05 – 0,74) у порівнянні з початком лікування (Табл. 5.5).

В інших групах хворих не виявлялося статистично достовірних відмінностей до й через два місяці після початку терапевтичного курсу.

У групі хворих на МРТБ, також як і в інших групах хворих, переважали інтоксикаційно-подібні зсуви (42,5%) на початку лікування (Табл. 5.6.).

Через два місяця проведеної терапії у хворих відзначалося незначне

зниження рівня інтоксикаційних зсувів (на 4,4%). Зазначені зміни супроводжувалися тенденцією до збільшення катаболічно-спрямованих (на 4,3%) і алерго-інтоксикаційних (на 13,8%) зсувів у хворих на МРТБ. Це відображає наростання у хворих алергійних реакцій по типу ГВТ на тлі триваючої деструкції тканин.

Таблиця 5.3.

Частота зустрічаємості змін ЛК-спектрів плазми крові в групі хворих на ВДТБ.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Група обстежених хворих на ВДТБ			
		До початку лікування		Через два місяці	
		Кількість n=136	%	Кількість n=62	%
0	Нормологічні	3	2,2	1	2,0
1	Алерго-подібні	2	1,5	2	3,2
2	Інтоксикаційно-подібні	59	43,4	19	30,6
3	Катаболічно-подібні	14	10,3	7	11,3
4	Аутоімунно-подібні	8	5,9	0	0
5	Дистрофічно-подібні	19	14,0	12	19,4
6	Алерго-інтоксикаційні	20	14,7	7	11,3
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	11	8,1	12	19,4 ¹
8	Алерго-дистрофічні	0	0	2	3,2
Основні напрямки змін системного гомеостазу					
1	Гідролітичний	92	67,6	38	61,3
2	Проліферативний	10	7,4	2	3,2
3	Змішаний	31	22,8	21	33,9

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групами хворих до та через 2 міс. після лікування.

Таблиця 5.4.

Частота зустрічальності змін ЛК-спектрів плазми крові в групі хворих на РТБ.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Група обстежених хворих на РТБ			
		До лікування		Через два місяці	
		Кількість n=20	%	Кількість n=7	%
0	Нормологічні	0	0,0	0	0,0
1	Алерго-подібні	1	5,0	0	0,0
2	Інтоксикаційно-подібні	7	35,0	6	85,7 ¹
3	Катаболічно-подібні	3	15,0	1	14,3
4	Аутоімунно-подібні	0	0,0	0	0,0
5	Дистрофічно-подібні	2	10,0	0	0,0
6	Алерго-інтоксикаційні	2	10,0	0	0,0
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	3	15,0	0	0,0
8	Алерго-дистрофічні	2	10,0	0	0,0
Основні напрямки змін системного гомеостазу					
1	Гідролітичний	12	60,0	7	100,0 ¹
2	Проліферативний	1	5,0	0	0,0
3	Змішаний	7	35,0	0	0,0

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групами хворих до та через 2 міс. після лікування.

Таблиця 5.5.

Частота зустрічаємості змін ЛК-спектрів плазми крові в групі хворих на ХТБ.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Група обстежених хворих ХТБ			
		До лікування		Через два місяці	
		Кількість n=13	%	Кількість n=5	%
0	Нормологічні	0	0,0	0	0,0
1	Алерго-подібні	1	7,7	0	0,0
2	Інтоксикаційно-подібні	6	46,2	0	0,0
3	Катаболічно-подібні	2	15,4	0	0,0
4	Аутоімунно-подібні	0	0,0	1	20,0
5	Дистрофічно-подібні	2	15,4	0	0,0
6	Алерго-інтоксикаційні	1	7,7	2	40,0
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	0	0,0	1	20,0
8	Алерго-дистрофічні	1	7,7	1	20,0
Основні напрямки змін системного гомеостазу					
1	Гідролітичний	10	76,9	0	0,0
2	Проліферативний	1	7,7	1	20,0
3	Змішаний	2	15,4	4	80,0 ¹

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групами хворих до та через 2 міс. після лікування.

Таблиця 5.6.

Частота зустрічаємості змін ЛК-спектрів плазми крові в групі хворих з хіміорезистентним ТБ.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Група всіх обстежених хворих з хіміорезистентним ТБ (МРТБ, РМРТБ, РРТБ)			
		До лікування		Через два місяці	
		Кількість n=40	%	Кількість n=21	%
0	Нормологічні	0	0,0	0	0,0
1	Алерго-подібні	1	2,5	0	0,0
2	Інтоксикаційно-подібні	17	42,5	8	38,1
3	Катаболічно-подібні	4	10,0	3	14,3
4	Аутоіmunно-подібні	3	7,5	0	0,0
5	Дистрофічно-подібні	6	15,0	2	9,5
6	Алерго-інтоксикаційні	4	10,0	5	23,8
7	Аутоіmunно-інтоксикаційні	3	7,5	2	9,5
8	Алерго-дистрофічні	2	5,0	1	4,8

У хворих на МРТБ до початку спостерігалася перевага гідролітичних змін системного гомеостазу над змішаними ($\chi^2 = 16,36$, RR = 3,00, p = 0,00, CI = 1,62 – 5,54) і проліферативними ($\chi^2 = 27,86$, RR = 6,75, p = 0,00, CI = 2,60 – 17,53) (Табл. 5.7).

Таблиця 5.7.

Спрямованість семіотичних зсувів ЛК-метрії плазми крові у хворих з хіміорезистентним ТБ.

Основні напрямки змін системного гомеостазу					
№	Тип ЛК-зсувів	До початку лікування		Через 2 місяці	
		n	%	n	%
1	Гідролітичний	27	67,5 ¹	13	61,9
2	Проліферативний	4	10,0 ¹	0	0,0
3	Змішаний	9	22,5 ¹	8	38,1

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні відмінності між групами хворих, $p < 0,05$.

У групі хворих з іншими формами туберкульозного процесу, до якої нами були віднесені хворі з ІТБ, НЛТБ, ПЛТБ і НДП, у половини хворих (50%) переважали інтоксикаційно-подібні зсуви. Катаболічно- і дистрофічно-подібні зрушення відзначалися в 16,7% відповідно (Табл. 5.8).

Наприкінці лікування в даній групі хворих було виявлено незначне збільшення інтоксикаційних (на 10%) і катаболічно-подібних зсувів (на 3,3%). Зазначені зміни супроводжувалися зниженням внеску дистрофічно-подібних змін.

Також у хворих даної групи спостерігалася достовірна перевага гідролітично-спрямованих змін гомеостазу над змішаними ($\chi^2 = 10,67$, RR = 5,00, $p = 0,00$, CI = 1,38 – 18,17) і проліферативними.

Таблиця 5.8.

Частота зустрічаємості змін ЛК-спектрів плазми крові в групі хворих з іншими формами ТБ.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Група обстежених хворих іншими формами ТБ (ІТБ, НЛТБ, ПЛТБ, НДП)			
		До початку лікування		Через два місяці	
		Кількість n=12	%	Кількість n=5	%
0	Нормологічні	0	0,0	1	20,0
1	Алерго-подібні	0	0,0	0	0,0
2	Інтоксикаційно-подібні	6	50,0	3	60,0
3	Катаболічно-подібні	2	16,7	1	20,0
4	Аутоімунно-подібні	0	0,0	0	0,0
5	Дистрофічно-подібні	2	16,7	0	0,0
6	Алерго-інтоксикаційні	1	8,3	0	0,0
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	1	8,3	0	0,0
8	Алерго-дистрофічні	0	0,0	0	0,0

Порівняльний аналіз спрямованості метаболічних зсувів у хворих на туберкульоз між групами в залежності від типу процесу виявив статистично достовірну перевагу інтоксикаційно-подібних зсувів у хворих на РТБ, ніж у хворих із МРТБ ($\chi^2 = 4,76$, RR = 2,25, p = 0,03, CI = 1,21 – 4,20) і ВДТБ ($\chi^2 = 8,26$, RR = 0,36, p = 0,00, CI = 0,22 – 0,58) через 2 місяця після початку курсу

хіміотерапії.

Таблиця 5.9.

Спрямованість семіотичних зсувів ЛКС-метрії плазми крові у хворих з хіміорезистентним ТБ.

Основні напрямки змін системного гомеостазу					
№	Тип ЛК-зсувів	До початку лікування		Через 2 місяці	
		n	%	n	%
1	Гідролітичний	10	83,3 ¹	4	80,0
2	Проліферативний	0	0,0	0	0,0
3	Змішаний	2	16,7 ¹	0	0,0

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні відмінності між групами хворих, $p < 0,05$.

Також у хворих на РТБ наприкінці лікувального курсу гідролітично-спрямовані процеси були вірогідно більш виражені, ніж хворих із ВДТБ ($\chi^2 = 4,16$, RR = 0,61, $p = 0,04$, CI = 0,50 – 0,75) і МРТБ ($\chi^2 = 3,73$, RR = 1,62, $p = 0,05$, CI = 1,15 – 2,26).

У групи хворих із ХТБ змішаний тип метаболічних процесів наприкінці лікування був більшим, ніж у хворих із ВДТБ ($\chi^2 = 4,21$, RR = 0,42, $p = 0,04$, CI = 0,24 – 0,74) (Рис. 5.7).

У такий спосіб аналіз результатів усереднених ЛК-спектрів плазми крові обстежених хворих виявив тенденцію до збільшення в динаміці відсоткового вмісту фракційного складу часточок більшого діаметра (III – V дискретних зон від 39 – до 264 нм і більш) як на момент початку курсу хіміотерапії, так і по його завершенню, і, відповідно, зниження вмісту низькомолекулярних часток (I – II фракції розміром від 1 – до 38 нм). Це може бути пов'язане зі збільшенням кількості імунних і тромбоцитарних комплексів різного розміру (низько-, середньо- і високомолекулярних) у плазмі крові, а також з активацією й

наступним перерозподілом компонентів II фракції, а саме глобулінів, фібриногену (22 нм) і факторів згортання крові.

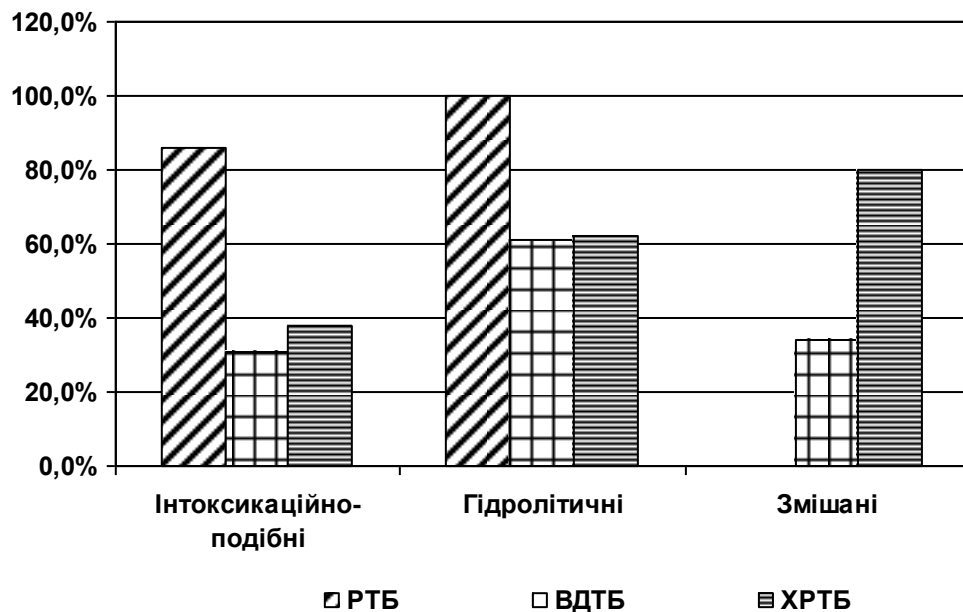


Рис. 5.7. Спрямованість метаболічних зсувів у хворих різних груп в залежності від типу туберкульозу.

Зниження кількості часточок I дискретної зони, до яких, в основному, відносять альбуміни, може бути пов'язане з наявністю гострого й хронічного запального процесу (бактеріальні інфекції, некроз тканини); порушенням синтетичної функції печінки (гепатити й цирози різної етіології, токсична дія лікарських препаратів і ін.); приймання деяких лікарських препаратів (зокрема, ізоніазиду) [180]. Проте, слід зазначити, що в групі обстежених нами хворих (до й через два місяці після початку курсу хіміотерапії), у цілому, спостерігається виразне накопичення часточок розміром від 12 – до 38 нм, що відповідає наявності у хворих інтоксикаційних процесів, що відображають зниження детоксикаційної функції печінки або екскреторної функції нирок.

5.3. Спрямованість метаболічних зсувів у хворих на туберкульоз в залежності від характеру змін показників системи гемостазу

У більшості частини обстежених нами хворих, згідно з результатами коагулологічних досліджень (коагулограма й НПГР), був виявлений прокоагуляційний зсув й незначне пригнічення фібринолізу. Враховуючи цей факт, ми провели порівняльний аналіз виявлених раніше змін стану системи гемостазу з отриманими результатами ЛКС-метрії в тих самих хворих.

Переважаючі зміни стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу, які виражалися в збільшенні кількості тромбоцитів і спонтанної агрегації тромбоцитів, характеризувалися перевагою в даній групі хворих на догоспіталізаційному етапі інтоксикаційно-подібних змін гомеостазу (45,6%) за даними ЛКС-метрії (Табл. 5.10.). В 14,1% хворих були виявлені дистрофічно-подібні зрушення, в 12,1% - змішані алерго-інтоксикаційні, в 10,7% - катаболічно-подібні зрушення.

Через 2 місяця після початку лікування в даній групі хворих відзначалася тенденція до зниження внеску інтоксикаційно-подібних спектрів (на 7,4%). Однак інтоксикаційні зміни, як і раніше, залишався переважаючим. У хворих також відзначалося збільшення на 8,1% аутоімунно-інтоксикаційних спектрів, у порівнянні з вихідним рівнем.

Зміни рівня показників коагуляційної ланки гемостазу у хворих з гіперкоагуляційним синдромом характеризувалися перевагою інтоксикаційно-подібних зсувів за всіма показниками (від 36,8% - до 49,6%) на момент початку курсу хіміотерапії.

Дистрофічно-спрямовані зсуви виявлялися у від 10 – до 14,9% хворих залежно від показника. Катаболічно-подібні зсуви зустрічалися із частотою від 8,3% - до 13,2%. Змішані алерго-інтоксикаційні - від 10,8% - до 15,8% (Табл.5.11.).

Таблиця 5.10.

Спрямованість метаболічних зсувів у хворих на туберкульоз, у яких виявлено статистично значиме підвищення агрегації тромбоцитів як показника судинно-тромбоцитарного гемостазу.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	Розподіл хворих			
		До початку		Через 2 місяця	
		n	%	n	%
0	Нормологічні	1	0,7	2	2,9
1	Алерго-подібні	2	1,3	1	1,5
2	Інтоксикаційно-подібні	68	45,6	26	38,2
3	Катаболічно-подібні	16	10,7	8	11,8
4	Аутоімунно-подібні	8	5,4	0	0,0
5	Дистрофічно-подібні	21	14,1	9	13,2
6	Алерго-інтоксикаційні	18	12,1	8	11,8
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	12	8,1	11	16,2
8	Алерго-дистрофічні	3	2,0	3	4,4

Таблиця 5.11.

Спрямованість метаболічних зсувів коагуляційного гемостазу у хворих на туберкульоз з порушенням стану системи гемостазу на початку лікування.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	ЧРП ↓		АЧГЧ ↑		ПЧ ↑		ТЧ ↑		Фібриноген ↑		ФАК ↑ (пригнічення активності)		ФСФ ↑		РКЗ ↑		Етаноловий тест + (позитивний)	
		До	Після	До	Після	До	Після	До	Після	До	Після	До	Після	До	Після	До	Після	До	Після
0	Нормологічні	3	2,6	1	0,6	1	0,6	0	0,0	2	1,0	0	0,0	0	0,0	1	0,7	0	0,0
1	Алерго-подібні	5	4,4	3	1,8	4	2,6	4	3,6	5	2,6	1	0,9	0	0,0	3	2,2	1	1,1
2	Інтоксикаційно-подібні	42	36,8	76	46,1	70	44,9	44	40,0	80	41,2	48	44,9	60	49,6	59	44,0	39	41,9
3	Катаболічно-подібні	15	13,2	19	11,5	17	10,9	14	12,7	25	12,9	12	11,2	10	8,3	15	11,2	12	12,9
4	Аутоімунно-подібні	6	5,3	8	4,8	6	3,8	5	4,5	8	4,1	7	6,5	5	4,1	7	5,2	6	6,5
5	Дистрофічно-подібні	17	14,9	22	13,3	22	14,1	11	10,0	28	14,4	14	13,1	18	14,9	20	14,9	10	10,8
6	Алерго-інтоксикаційні	18	15,8	21	12,7	20	12,8	15	13,6	27	13,9	13	12,1	16	13,2	15	11,2	10	10,8
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	6	5,3	11	6,7	12	7,7	9	8,2	15	7,7	9	8,4	9	7,4	11	8,2	7	7,5
8	Алерго-дистрофічні	2	1,8	4	2,4	4	2,6	8	7,3	4	2,1	3	2,8	3	2,5	3	2,2	8	8,6

У хворих через два місяця після початку лікування було виявлено статистично достовірне збільшення аутоімунно-інтоксикаційно-подібних спектрів по ЧРП на 13,4% ($\chi^2 = 8,59$, RR = 0,28, p = 0,03, CI = 0,11 – 0,70) у порівнянні з вихідним рівнем, що свідчить про наростання аутоімунних і інтоксикаційних процесів у хворих з підвищеною активністю згортальної системи крові. При цьому, незважаючи на незначну тенденцію до зниження рівня інтоксикаційних спектрів, зберігся їх домінуюче високий рівень після двомісячного курсу терапії. Також було виявлено достовірне збільшення аутоімунно-інтоксикаційних спектрів у хворих з позитивним етаноловим тестом на 12% ($\chi^2 = 4,11$, RR = 0,39, p = 0,04, CI = 0,15 – 0,99). Таким чином у хворих з латентно-перебігаючим ДВЗ-синдромом спостерігалось наростання аутоімунно-інтоксикаційних процесів через 2 місяці після початку курсу специфічної терапії.

Також у даній групі хворих зберігався високий рівень катаболічних, дистрофічних і алерго-інтоксикаційних зсувів за всіма показниками (Табл. 5.12).

Таким чином, у хворих на туберкульоз з зсувом у системі гемостазу в бік коагуляції, незважаючи на пройдений двомісячний курс специфічної терапії, переважають гідролітично-подібні зсуви в ЛК-спектрах, що пов'язане швидше за все з вираженою інтоксикацією, а також дистрофічно-подібні й катаболічно-подібні. Наприкінці інтенсивного курсу терапії у хворих було виявлене наростання алерго-інтоксикаційно- і аутоімунно-інтоксикаційно-подібних спектрів.

Зазначені зміни вписуються в картину патогенезу туберкульозного процесу й сприяють збільшенню активності згортальної системи в організмі хворого, виступаючи додатковим фактором запуску й постійної активації гіперкоагуляційного каскаду.

Таблиця 5.12.

Спрямованість метаболічних зсувів коагуляційного гемостазу у хворих на туберкульоз з порушенням стану системи гемостазу через 2 місяця після початку лікування.

№	Спрямованість метаболічних зсувів	ЧРП ↓		АЧТЧ ↑		ПЧ ↑		ТЧ ↑		Фібриноген ↑		ФАК ↑ (пригнічення активності)		ФССФ ↑		РКЗ ↑		Етаноловий тест + (позитивний)	
		Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	Після	
0	Нормологічні	1	1,3	2	2,4	2	2,7	1	1,9	2	2,2	1	1,6	2	2,6	1	2,4	1	2,4
1	Алерго-подібні	1	1,3	1	1,2	1	1,4	0	0,0	2	2,2	1	1,6	1	1,3	0	0,0	1	2,4
2	Інтоксикаційно-подібні	26	34,7	29	34,9	26	35,6	21	39,6	32	35,6	22	35,5	28	36,8	16	39,0	12	29,3
3	Катаболічно-подібні	7	9,3	10	12,0	8	11,0	6	11,3	10	11,1	8	12,9	7	9,2	3	7,3	4	9,8
4	Аутоімунно-подібні	1	1,3	1	1,2	1	1,4	1	1,9	1	1,1	0	0,0	1	1,3	0	0,0	1	2,4
5	Дистрофічно-подібні	9	12,0	12	14,5	9	12,3	7	13,2	14	15,6	7	11,3	11	14,5	6	14,6	7	17,1
6	Алерго-інтоксикаційні	12	16,0	14	16,9	12	16,4	6	11,3	12	13,3	11	17,7	12	15,8	8	19,5	6	14,6
7	Аутоімунно-інтоксикаційні	14	18,7 ¹	11	13,3	11	15,1	10	18,9	13	14,4	9	14,5	10	13,2	5	12,2	8	19,5 ¹
8	Алерго-дистрофічні	4	5,3	3	3,6	3	4,1	1	1,9	4	4,4	2	3,2	4	5,3	2	4,9	1	2,4

Примітка: 1 - статистично вірогідні зміни між групами хворих до та після лікування.

Згідно патогенетичному механізму розвитку туберкульозного процесу, гіперкоагуляція виступає в ролі захисного фактора з метою обмеження дисемінації *M.tuberculosis* в організмі хазяїна зі струмом крові й лімфи. Становить практичний інтерес установити чи є гіперкоагуляція в клінічній практиці патологічним синдромом, що вимагає цілеспрямованої корекції, або є супутнім патогенетичним станом, що піддається відповідній нормалізації при зменшенні/ліквідації *M.tuberculosis* з організму хазяїна. Використання ЛКС-метрії дозволило встановити, що в 2/3 хворих через два місяці після курсу стандартної протитуберкульозної терапії зберігається високий рівень інтоксикаційно-подібних, а також катаболічно- і дистрофічно-подібних порушень. Інтоксикаційний синдром, як відомо, пов'язаний з нагромадженням в організмі хворого продуктів розпаду життєдіяльності *M.tuberculosis* і різних метаболітів, і тим самим, імовірно, потенціює збільшення в'язкості крові.

Високий рівень інтоксикаційних порушень викликаний порушенням або детоксиційної функції печінки, або – нирок. Враховуючи той факт, що нирки й печінка приблизно рівною мірою піддаються токсичному впливу ПТП [141,158], впливу зовнішніх факторів (алкоголь, наркотики супутня патологія тощо), а також той факт, що більшість факторів згортання крові на даному етапі в надлишку синтезуються в печінці, впливає висновок про те, що, імовірно, високий рівень інтоксикації обумовлений більшою мірою порушенням функції нирок.

Таким чином, нормалізація функціональної активності печінки й нирок є невід'ємним нарівні з хіміотерапією етапом протитуберкульозного лікування. Аналіз відповідної цілеспрямованої детоксиційної терапії дозволить більш повно судити про ступінь виразності патогенетичного функціонування системи згортання крові у хворих на туберкульоз. Це питання потребує подальших досліджень.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Амосова А. В. Лазерна кореляційна спектроскопія макромолекулярних комплексів плазми крові у хворих на туберкульоз з порушеннями стану системи гемостазу / Ю. І. Бажора, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова // Одеський медичний журнал. – 2013. – Т. 140, № 6. – С. 4–8.

2. Амосова А. В. Оцінка стану системного гомеостазу методом лазерної кореляційної спектроскопії у хворих на туберкульоз з порушеннями стану системи гемостазу / А. В. Амосова, М. М. Чеснокова // Розвиток наукових досліджень 2013 : 9-та міжнар. наук.-практ. конф., 25–27 листопада 2013 р., Полтава : матеріали. – Полтава, 2013. – Т. 4. – С. 14-15.

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ГЕННИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ В ПОРУШЕННІ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

6.1. Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень поліморфізму гена *SERPINE1*, 4G/5G в обстежених групах

Система гемостазу є складною багатофункціональною системою, що забезпечує, з одного боку, зупинку кровотечі, з іншого – підтримує кров у рідкому стані. Її основними компонентами є: система згортання крові з прокоагулянтною та антикоагулянтною ланками, фібринолітична система крові та факторі згортання та фібринолізу формених елементів крові, судинної стінки й тканин [44].

У хворих на туберкульоз, згідно численним клінічним дослідженням, а також результатам проведених нами обстежень пацієнтів, спостерігаються порушення стану системи гемостазу. Вони проявляються в коагуляційному зсуві та пригніченому фібринолізі [40,45]. Причина цих змін не завжди однозначно може бути пояснена лише з патогенетичної точки зору (порушення синтетичної функції печінки, детоксикаційної функції нирок, токсичної дії протитуберкульозних препаратів та ін.). Необхідно враховувати роль генетичних чинників у розвитку патологічного стану.

Синтез та функціонування різних компонентів системи гемостазу (проферментів, ферментів, їхніх інгібіторів) контролюється певними генами. Дослідження особливостей впливу та частоти зустрічаємості поліморфних варіантів генів, що контролюють систему гемостазу, є важливим для повної та коректної оцінки патофізіологічних механізмів порушень функціонування гемостатичної системи у хворих на туберкульоз. Це може дозволити

спрогнозувати особливості перебігу та результат захворювання у хворих на туберкульоз, запобігти можливим ускладненням (розвиток ДВЗ-синдрому).

В першу чергу вивчаються гени, що впливають на функціонування основних етапів прокоагуляційної (плазмової) та фібринолітичної ланки. Немаловажним чинником також є висока частота зустрічаємості поліморфних варіантів генів у європейській популяції та доступність для виявлення в медико-генетичних лабораторіях регіону для пацієнтів [58,82].

Ген інгібітору активатору плазміногену 1 типу, *PAI1* або *SERPINE1*, кодує ендотеліальний ІАП-1, що інгібує тканинний та урокіназний типи активатору плазміногену. Тканинний та урокіназний активатори плазміногену перетворюють плазміногену в плазмін (фібринолізин), що розчинює фібринові згустки. Таким чином ген *SERPINE1* негативно регулює фібриноліз та зменшує розчинення згустків [83].

Як вже було зазначено, розповсюдженість поліморфного варіанту гену *SERPINE1(PAI-1)*, що несе в собі *4G* алель, дещо відрізняється в залежності від етнічної раси та особливостей зовнішнього середовища індивідуумів [84]. Враховуючи цей факт, до дослідження були залучені лише мешканці м. Одеси та Одеської області слов'янської приналежності. Частота зустрічаємості поліморфних варіантів гену *PAI-1 (4G/5G)* вірогідно не відрізнялась між контрольною групою (здорових осіб від 17 до 27 років) та групою хворих (Табл. 6.1). Отримані результати відповідають відсотковому розподілу генотипів та алелей в європейській популяції [58].

Таблиця 6.1.

Розподіл поліморфного варіанту *4G/5G* гену *SERPINE1* в групі хворих на туберкульоз Одеського регіону (%).

Група	Кількість (n)	Генотип			Алелі	
		4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Здорові особи	39	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Хворі на туберкульоз	120	39,2	50,0	10,8	0.64	0.36

Згідно міжнародній класифікації віку ВОЗ, всі хворі були розподілені на чотири групи. В групі хворих старше 60 років спостерігається достовірне зменшення частоти генотипу *5G/5G* ($\chi^2=11,6$; $p=0,001$; 95% CI 32,1 – 107,9) (Табл. 6.2). Ця ситуація може бути пов'язана зі зменшенням, як такової, загальної кількості хворих цієї вікової категорії. Наявність *4G* алеля може також виступати додатковим захисним фактором у цієї групи хворих.

Таблиця 6.2.

Розподіл поліморфного варіанту гену *SERPINE1*
в залежності від віку (%).

Групи	Генотип			Алель	
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
I група 20 - 44	35,7	54,3	10,0 ¹	0.63	0.37
II група 45 - 59	40,5	46,1	13,5	0.64	0.36
III група 60 - 75	54,5	45,5	0,0 ¹	0.77	0.23

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між віковими групами хворих; $\chi^2=11,6$; $p=0,001$; 95% CI 32,1 – 107,9.

Розподіл генотипів в залежності від типу випадку туберкульозного процесу виявило статистично вірогідне зменшення кількості *5G/5G* генотипу у групі хворих на ВДТБ ($\chi^2=6,0$; $p=0,01$; RR = 3,74; CI 1,20 – 11,65) у порівнянні з контрольною групою (Табл.6.3). Порівняльний аналіз розподілу генотипів та алелей серед інших типів випадку туберкульозу не виявив достовірних асоціацій ні з контрольною групою, ні між групами. Слід зазначити, що у хворих на туберкульоз з тривалим анамнезом лікування (ХТБ) не зустрічався генотип та відмічалась тенденція до домінування *4G/5G* генотипу. У групі хворих з іншими випадками туберкульозу (ІТБ, НЛТБ, ПЛТБ, НДП) також не було виявлено хворих з *5G/5G* генотипом та спостерігався максимальний рівень частоти *4G* алеля серед усіх типів випадку туберкульозу.

Таблиця 6.3.

Розподіл генотипів та алелей гену *SERPINE1* у хворих з різними типами випадку туберкульозу (%).

Тип випадку туберкульозу					
Група	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
ВДТБ	41,1	53,4	5,5 ¹	0.68	0.32
МРТБ, РМРТБ, РРТБ	40,0	33,3	26,7	0.57	0.43
РТБ	31,3	43,7	25,0	0.53	0.47
ХТБ	28,6	71,4	0,0	0.64	0.36
Інші випадки (ІТБ, НЛТБ, ПЛТБ, НДП)	42,9	57,1	0,0	0.71	0.29

Примітка: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих та контрольною групою; $\chi^2=6,0$; $p=0,01$; $RR = 3,74$; $CI 1,20 - 11,65$.

Проаналізувавши результати розподілу генотипів та алелей у хворих в залежності від наявності або відсутності деструктивних процесів легень, було виявлене статистично вірогідне збільшення частоти мутантного 4G алелю у хворих без деструкції у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2=3,35$; $p=0,07$; $RR = 1,33$; 95% $CI 1,01 - 1,75$) (Табл. 6.4).

Таблиця 6.4.

Розподіл генотипів та алелей гену *SERPINE1* в залежності від деструктивних процесів у хворих на туберкульоз (%).

Група	Генотип				
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Деструкція +	33,9	57,6	8,5	0.63	0.37
Деструкція -	60	33,3	6,7	0.77 ¹	0.23

Примітка: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою без деструкції та контрольною групою; $\chi^2=3,35$; $p=0,07$; $RR = 1,33$; 95% CI 1,01 – 1,75.

Підвищення частоти 4G алелю зумовлює, як було зазначено вище, підвищений рівень транскрипції та активності PAI-1. Це веде до зниження синтезу з плазміногену плазміна, що руйнує фібринові згустки, зниженню активності фібринолізину та накопленню в організмі продуктів деградації фібрину.

Ці результати співпадають з даними отриманими під час аналізу стану системи гемостазу. У хворих без деструкції була виявлена тенденція до більш вираженого пригнічення фібринолітичної системи (подовження ФАК на 4,5%) та нищій рівень загального фібриногену (Ф на 33,4%). Це може бути наслідком підвищеного споживання фібриногену та поступового виснаження фібриногенового пулу, що, в свою чергу, може привести до розвитку тромбгеморрагічного синдрому, у порівнянні з групою хворих з деструкцією.

У хворих з позитивним результатом бактеріоскопічного дослідження (МБТ+) на 14,7% вірогідно менше частота зустрічаємості генотипу 5G/5G у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2=5,46$; $p=0,02$; $RR = 3,54$; 95% CI 1,14 – 11,00) та на 34,2% менше у порівнянні з групою хворих без бактеріовиділення (МБТ-) ($\chi^2=7,32$; $p=0,007$; $RR = 0,15$; 95% CI 0,03 – 0,61) (Табл. 6.5).

Таблиця 6.5.

Розподіл генотипів та алелей гену *SERPINE1* в залежності від бактеріовиділення у хворих на туберкульоз (%).

Група	Генотип				
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
МБТ +	40,6	53,6	5,8 ¹	0.67	0.33
МБТ -	20,0	40,0	40,0 ²	0.40	0.60

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих та контрольною групою.

2. ² - статистично вірогідні зміни між групами з позитивним та негативним результатом бактеріологічного дослідження; $p < 0,05$.

Під час проведеного у попередній главі порівняльного аналізу коагулогічних показників груп хворих з МБТ+ та МБТ-, була встановлена більш інтенсивна вираженість коагуляційного зсуву у хворих з МБТ+. Враховуючи отримані результати, можна припустити, що вираженість коагуляційних порушень пов'язана ще й з неналежним розщепленням фібринових згустків внаслідок підвищеної активності та кількості ІАП-1.

Аналіз асоціації поліморфних варіантів гену *SERPINE1* з основними патогенетичними особливостями туберкульозного процесу виявив достовірну асоціацію зменшення частоти 5G алеля лише у хворих 1 категорії обліку у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2=4,97$; $p=0,03$; RR = 0,22; 95% CI 0,05 – 0,98) (Табл.6.6).

Статистично вірогідних асоціацій між іншими показниками виявлено не було.

Таблиця 6.6.

Характеристика патогенетичних особливостей туберкульозного процесу в залежності від поліморфних варіантів гену *SERPINE1* (%).

Група	Стать				
	Генотип				
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	42,1	42,1	15,8	0.63	0.37
Чоловіки	41,1	50,0	8,9	0.66	0.34
Контрольна група	30,0	45,0	25,0	0.53	0.47
Жінки	32,1	53,6	14,3	0.59	0.41
Форма туберкульозного процесу					
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Дисемінована	38,1	54,8	7,1	0.66	0.34
Інфільтративна	40,6	50,0	9,4	0.66	0.34
Фаза туберкульозного процесу					
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Інфільтративна	38,2	53,0	8,8	0.65	0.35
Обсеменіння	30,8	61,5	7,7	0.62	0.38
Розсмоктування, ущільнення та рубцювання	46,2	50	3,8	0.71	0.29
Наявність резистентності					
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Резистентність +	40,0	56,0	4,0	0.68	0.32
Резистентність -	30,8	61,5	7,7	0.62	0.38
Категорія обліку					
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9	43,6	20,5	0.58	0.42
Кат 1	43,2	52,3	4,5	0.69	0.31 ¹
Кат 2	31,6	52,6	15,8	0.58	0.42
Кат 4	36,4	54,5	9,1	0.64	0.36
Летальні наслідки					
	4G/4G	4G/5G	5G/5G	4G	5G
Контрольна група	35,9 (14)	43,6 (17)	20,5 (8)	0.58	0.42
Летальність +	36,8	47,4	15,8	0.61	0.39
Летальність -	39,4	51,5	9,1	0.65	0.35

Примітка: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групою хворих та контрольною групою; $p=0,03$.

6.2. Вплив поліморфізму гену *SERPINE1*, *4G/5G* на зміни коагулологічних показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз

Поліморфізм гену *SERPINE1*, що кодує ендотеліальний інгібітор активатору плазміногену-1, відіграє важливу роль в регулюванні фібринолітичного компоненту системи гемостазу.

Відкладення фібрину при туберкульозній інфекції є закономірною тканинною реакцією, а його розсмоктування - необхідною умовою репарації [86]. Тому аналіз стану системи гемостазу у хворих в залежності від поліморфізму гену *SERPINE1* виступає важливим фактором у трактуванні патофізіологічних особливостей розвитку та перебігу захворювання у хворих з різними генотипами.

У хворих гомозиготних за мутантним *4G* алелем спостерігалось статистично вірогідне порушення рівня більшості показників коагулограми у порівнянні з групою хворих гомозиготних за *5G* алелем.

Найбільші зміни були виявлені в плазмовій ланці системи гемостазу, що проявлялось у достовірному подовженні АЧТЧ на 11,4%, ПЧ на 13,8%; збільшенні загального фібриногену на 124,3%, активності ФСФ на 8,6% та зменшенні ФАК на 7,4% (у порівнянні з контролем) (Табл 6.7).

Враховуючи патогенетичні аспекти впливу мутації на фібринолітичний компонент системи гемостазу, слід звернути увагу на характер зміни показнику ФАК. Максимальний рівень порушення показнику, що супроводжується його подовженням, спостерігається саме у групі хворих з генотипом *4G/4G* (на 7,4% від контролю), на відміну від хворих з *4G/5G* генотипом (на 0,9% від контролю) та *5G/5G* генотипом (менше від контролю на 1,3%). Таким чином, у групі хворих гомозиготних за *4G* алелем відбувається статистично вірогідно ($p < 0,05$) більш виражене пригнічення фібринолітичної активності крові ніж у хворих з іншими генотипами.

У гетерозиготних носіїв нарівні з вираженими порушеннями у судинно-тромбоцитарній та коагуляційній ланках системи гемостазу, звертає увагу статистично достовірне найбільш інтенсивне скорочення ЧРП на 14,4% (у порівнянні з контролем) та на 11,7% (у порівнянні з початком лікування) через два місяці після початку лікування.

Найбільш виражені порушення у судинно-тромбоцитарній ланці були виявлені в групі хворих з *5G/5G* генотипом. Рівень кількості тромбоцитів на початку лікування був на 19% вищий, ніж у контрольній групі. Через два місяці їхня кількість збільшилась ще на 18,8%. Рівень агрегації тромбоцитів був на 19% вищий за рівень норми.

Слід звернути увагу на те, що також у цієї групи хворих через два місяці після початку лікування спостерігалось вірогідне подовження на 23,3% ЧРП у порівнянні з хворими з *4G/5G* генотипом (Табл. 6.7). Ця тенденція зберігається й у порівнянні з групою з *4G/4G* генотипом (на 19,7%).

Таким чином, порівняльний аналіз впливу поліморфних варіантів гену *SERPINE1*, *4G/5G* виявив наступне:

- частота поліморфних варіантів *4G/5G* вірогідно не відрізнялась між групою хворих на туберкульоз та контрольною групою, що свідчить про відсутність асоціації поліморфізму гену з ризиком розвитку захворювання в Одеському регіоні;

- у хворих старше 60 років не зустрічався *5G/5G* генотип ($\chi^2=11,6$; $p=0,001$; 95% CI 32,1 – 107,9) у порівнянні з групою хворих від 20 до 44 років. Це може свідчити про збільшення з віком частоти зустрічаємості патологічного *4G* алелю у хворих на туберкульоз;

- *5G/5G* генотип найменше зустрічався у групі хворих на ВДТБ ($\chi^2=6,0$; $p=0,01$; RR = 3,74; CI 1,20 – 11,65 та у хворих 1 категорії обліку ($\chi^2=4,97$; $p=0,03$; RR = 0,22; 95% CI 0,05 – 0,98), що може побічно свідчити про більш виражені порушення в фібринолітичній ланці системи гемостазу у цих хворих;

Таблиця 6.7.

Характеристика показників коагулограми в залежності від поліморфних варіантів гену *SERPINE1*, 4G/5G.

п.п.	Показ- ник	Контрольна група (n=40)	Хворі на туберкульоз (n=120)					
			Генотип					
			4G/4G		4G/5G		5G/5G	
			До	Через 2 міс.	До	Через 2 міс.	До	Через 2 міс.
1.	КТ	259,5 ± 23,4	299,41 ± 17,12 ¹	347,56 ± 16,06 ¹	308,25 ± 14,83 ¹	344,12 ± 14,19 ¹	308,75 ± 26,60 ¹	357,67 ± 39,57 ¹
2.	АТ	38,4 ± 6,6	45,93 ± 2,13 ¹	44,22 ± 1,83 ¹	42,28 ± 1,46	41,59 ± 1,65	45,92 ± 2,87 ¹	38,97 ± 3,37
3.	ЧРП	137,1 ± 36,7	129,07 ± 4,7	122,28 ± 6,5	133,43 ± 4,27	117,37 ± 4,24 ^{1,2}	135,75 ± 6,74	149,37 ± 13,64
4.	АЧТЧ	58,6 ± 6,4	65,27 ± 1,41 ¹	65,22 ± 1,36 ¹	62,95 ± 1,31 ¹	63,22 ± 1,05 ¹	62,30 ± 2,40	63,30 ± 3,07
5.	ПЧ	15,4 ± 1,9	17,53 ± 0,44 ¹	16,92 ± 0,4 ¹	17,02 ± 0,40 ¹	16,42 ± 0,37 ¹	16,03 ± 0,41	15,72 ± 0,80
6.	ТЧ	16,6 ± 8,3	17,39 ± 0,44	16,98 ± 0,39	16,95 ± 0,40	16,39 ± 0,37	15,93 ± 0,40	15,70 ± 0,78
7.	Ф	3,0 ± 1,0	6,73 ± 0,37 ¹	6,00 ± 0,41 ¹	6,32 ± 0,35 ¹	5,37 ± 0,33 ¹	5,77 ± 0,58 ¹	5,55 ± 0,85 ¹
8.	ФАК	170,8 ± 12,4	183,51 ± 3,13 ¹	178,51 ± 2,68 ¹	172,34 ± 2,60	174,97 ± 2,56	168,63 ± 4,66	172,27 ± 7,12
9.	ФСФ	66,4 ± 9,9	72,21 ± 1,85 ¹	76,28 ± 1,85 ¹	68,86 ± 1,56	72,27 ± 1,86 ¹	68,50 ± 3,13	73,00 ± 4,80
10.	РКЗ	0,4 ± 0,06	0,43 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,42 ± 0,03	0,40 ± 0,02
11.	Етан. тест	0,00 ± 0,00	0,54 ± 0,07 ¹	0,33 ± 0,11 ¹	0,42 ± 0,06 ¹	0,42 ± 0,10 ¹	0,17 ± 0,11 ¹	0,50 ± 0,22 ¹

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні відмінності між групами хворих до початку та через 2 міс. після початку лікування з контрольною групою.

2. ² - статистично вірогідні відмінності між групою хворих до та через 2 місяці після початку лікування.

3. ³ - статистично вірогідні відмінності між групами хворих з різними генотипами ($p < 0,005$).

- частота *4G* алелю суттєво частіше спостерігається у хворих без деструктивних процесів в легенях ($\chi^2=3,35$; $p=0,07$; $RR = 1,33$; 95% CI 1,01 – 1,75). Наявність даного алелю можна вважати протетичним фактором щодо ризику розвитку деструкції в легенях;

- наявність *5G/5G* генотипу асоційована з характером бактеріовиділення (+ або -). У хворих з МБТ+ виявляється найменша частота зустрічаємості генотипу у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2=5,46$; $p=0,02$; $RR = 3,54$; 95% CI 1,14 – 11,00) та з групою хворих з МБТ- ($\chi^2=7,32$; $p=0,007$; $RR = 0,15$; 95% CI 0,03 – 0,61), що може свідчити про вплив поліморфного варіанту гену на кількість *M.tuberculosis* в організмі;

- *4G/4G* генотип асоційований з найбільш вираженим зниженням інтенсивності фібринолітичної активності крові ($p<0,05$) серед інших генотипів поліморфного гену *SERPINE1*, *4G/5G* і максимальним підвищенням рівня загального фібриногену (на 124,3 %; $p<0,05$) у хворих, що підтверджує раніше встановлений характер впливу мутації на функціонування ІАП-1;

- у хворих *5G/5G* генотип асоційований зі збільшенням через два місяці після початку лікування часу рекальцифікації крові ($p=0,006$) , що може свідчити про зменшення наростання гіперкоагуляційних процесів.

6.3. Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень поліморфізму гену фактору XIII, A1 субодиниці, *F13A1*, *Val/Leu* в обстежених групах

Процес формування фібринового згустку, а саме перетворення довгих нерозчинних мономерів фібрину в нерозчинний полімерний фібриновий згусток, є завершальним етапом у каскаді коагуляції крові. Утворення

нерозчинного полімерного фібринового згустку відбувається під впливом фібринстабілізуючого фактора XIII.

Як вже було зазначено, фактор XIII складається із двох каталітичних субодиниць А та двох некаталітичних – В. Його активація, тобто перехід у фактор XIIIа, здійснюється тромбіном. Фактор XIIIа зшиває мономери фібрину, забезпечуючи стабілізацію фібринового згустку й наступну ретракцію [59-60].

А суб'юніт фактору XIII кодує ген *F13A1*. Заміна гуаніну на тимін у другому екзоні гена *F13A1* приводить до заміщення амінокислоти валін на лейцин (val на leu) (V34L). [61].

Поліморфізм *Val/Leu* збільшує швидкість активації фактору XIIIа тромбіном. *Leu34* знижує бічну агрегацію фібринових ниток. Згустки, сформовані *Leu34*, мають більш тонкі фібринові нитки. Також *Leu34* алель формує більш тонку сітчасту структуру згустку й знижує його проникність для формених елементів крові [61]. Таким чином, поліморфний варіант гена *F13A1*, *Val/Leu*, порушує формування повноцінної структури фібринового згустку, підвищує кровоточивість і погіршує загоєння ран. Даний поліморфізм є протективним чинником ризику розвитку інфаркту міокарда [64-68].

Визначення поліморфізму *Val/Leu* гена *F13A1* було проведено в 127 хворих на туберкульоз легень та 39 здорових осіб.

Частота зустрічальності поліморфного варіанта гена *F13A1*, *Val/Leu* у європейській популяції становить 0.24 для *Leu* і 0.76 для *Val* [58]. У контрольній групі здорових осіб Одеського регіону частота зустрічальності поліморфних варіантів склала 0.22 і 0.78 відповідно. Не було виявлено статистично достовірної різниці по частотах зустрічальності генотипів і/або алелей у контрольній групі й групі хворих на туберкульоз (Табл. 6.8). У групі хворих на туберкульоз поширеність *Leu* склала 0.26 і *Val* 0.74.

Таблиця 6.8.

Розподіл поліморфного варіанту *Val/Leu* гену *F13A1* в групі хворих на туберкульоз Одеського регіону (%).

Група	Кількість	Генотипи			Алелі	
	n	Leu/Leu	Val/Leu	Val/Val	Leu	Val
Здорові особи	39	2,6	46,2	51,3	0.26	0.74
Хворі на туберкульоз	127	2,6	40,2	58,3	0.22	0.78

У групі хворих середньої вікової категорії - від 45 до 59 років було виявлено статистично достовірне зменшення частоти *Val/Val* генотипу в порівнянні із групою молодих від 20 до 44 років ($\chi^2=7,57$; $p=0,006$; RR = 1,64; CI 1,09 – 2,44) (Табл.6.9). З віком спостерігається тенденція до зменшення частоти зустрічальності генотипу *Val/Val*, а також поширеності алелі *Val* у порівнянні з II ($\chi^2=5,06$; $p=0,003$; RR = 1,80; CI 1,01 – 1,38) і III ($\chi^2=4,02$; $p=0,005$; RR = 1,26; CI 0,94 – 1,68) віковими категоріями.

Таблиця 6.9.

Розподіл поліморфного варіанту гену *F13A1* в залежності від віку (%).

Група	Кількість	Генотипи			Алелі	
	n	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Контрольна група	39	2,6	46,2	51,3	0.26	0.74
I група 20 – 44 років	77	1,3	29,9 ¹	68,9 ¹	0.16 ¹	0.84 ¹
II група 45 – 59 років	38	0,0	57,9 ¹	42,1 ¹	0.29 ¹	0.71 ¹
III група 60 – 75 років	12	8,3	50,0	41,7	0.33 ¹	0.67 ¹

Примітка: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групами хворих; $p<0,005$.

Спостерігалось також відповідно достовірне збільшення з віком поширеності *Leu* алелі в порівнянні з II ($\chi^2=5,06$; $p=0,003$; $RR = 0,56$; $CI 0,34 - 0,93$) і III ($\chi^2=4,02$; $p=0,005$; $RR = 0,49$; $CI 0,25 - 0,95$) віковими групами. Враховуючи факт, що з віком спостерігалось зменшення кількості хворих на туберкульоз, можна припустити, що *Leu* алель виступає в ролі протективного чинника у хворих на туберкульоз, перешкоджає розвитку тромботичного стану.

У гетерозиготних носіїв також відзначався ріст частоти зустрічальності *Val/Leu* генотипу з віком ($\chi^2=8,4$; $p=0,004$; $RR = 0,51$; $CI 0,33 - 0,80$).

Статистично достовірних асоціацій поліморфізму зі статтю хворих, типом, формою й фазою туберкульозу, з розвитком деструктивних процесів у легенях, наявністю бактеріовиділення й резистентності, а також летальністю виявлене не було (Табл. 6.10).

Таблиця 6.10.

Характеристика патогенетичних особливостей туберкульозного процесу в залежності від поліморфних варіантів гену *F13A1* (%).

Група	Генотипи			Алелі	
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Стать					
Контрольна група	0,0	52,6	47,4	0.26	0.74
Чоловіки	1,0	42,3	56,7	0.22	0.78
Контрольна група	5,0	40,0	55,0	0.25	0.75
Жінки	3,3	33,3	63,3	0.20	0.80
Тип випадку туберкульозу					
Контрольна група	2,6	46,2	51,3	0.26	0.74
ВДТБ	1,3	40,5	58,2	0.21	0.79
МРТБ, РМРТБ, РРТБ	6,3	25,0	68,7	0.19	0.81

Продовження таблиці 6.10					
РТБ	0,0	37,5	62,5	0.19	0.81
ХТБ	0,0	62,5	37,5	0.31	0.69
Інші випадки (ІТБ, НЛТБ, ПЛТБ, НДП)	0,0	62,5	37,5	0.31	0.69
Форма					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Дисемінована	0,0	40,9	59,1	0.21	0.79
Інфільтративна	0,0	33,3	66,7	0.17	0.83
Наявність/відсутність деструкції					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Деструкція +	0,0	41,3	58,7	0.21	0.79
Деструкція -	0,0	26,7	73,3	0.13	0.87
Фаза туберкульозного процесу					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Інфільтративна	0,0	41,7	58,3	0.21	0.79
Обсеменіння	0,0	35,7	64,3	0.18	0.82
Розсмоктування, ущільнення та рубцювання	0,0	35,7	64,3	0.18	0.82
Наявність бактеріовиділення					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Контрольна група	2,6	46,2	51,3	0.26	0.74
МБТ +	0,0	39,7	60,3	0.20	0.80
МБТ -	0,0	33,3	66,7	0.17	0.83
Наявність резистентності					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Резистентність +	0,0	44,4	55,6	0.22	0.78
Резистентність -	0,0	36,5	63,5	0.18	0.82

Продовження таблиці 6.10					
Категорія обліку					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Кат 1	0,0	37,5	62,5	0.19	0.81
Кат 2	0,0	35,0	65,0	0.18	0.82
Кат 4	0,0	50,0	50,0	0.25	0.75
Летальні наслідки					
	Leu/Leu	Leu/Val	Val/Val	Leu	Val
Летальність +	4,8	33,3	61,9	0.21	0.79
Летальність -	0,9	41,5	57,5	0.22	0.78

6.4. Вплив поліморфізму гену *F13A1*, *Val/Leu* на зміни коагулогічних показників системи гемостазу у хворих на туберкульоз

Поліморфний варіант гену *F13A1*, *Val/Leu* асоційований з підвищеною кровоточивістю [63-67] внаслідок порушення кінетики зшивання фібрину й у результаті формування менш щільних і стійких згустків.

У групі хворих на туберкульоз, гомозиготних за *Leu* алеллю, були виявлені найбільші зміни показників коагулограми (Табл.6.11).

У судинно-тромбоцитарній ланці системи гемостазу у хворих з *Leu/Leu* генотипом було виявлено вірогідно максимальне серед усіх генотипів підвищення кількості тромбоцитів (на 29,9%) і швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (на 40,6%) у порівнянні з контрольною групою.

У плазмовій ланці гемостазу спостерігалось максимальне подовження АЧТЧ (на 19,6%) і пригнічення ФАК (на 15,1%). Слід звернути увагу на той

факт, що в даній групі хворих концентрація загального фібриногену була підвищена всього лише на 37%, на відміну від хворих з *Val/Leu* (на 111,3%) і *Val/Val* (на 114,7%) генотипами.

Зниження активності фібринстабілізуючого фактору в даній групі хворих була максимальною, що проявлялося в достовірному збільшенні показника на 24,5% у порівнянні з контрольною групою, на відміну від груп хворих з іншими генотипами (*Val/Leu* - на 3,1%, *Val/Val* на 6,4%). Через два місяці після початку лікування максимальний рівень активності ФСФ також спостерігався у хворих з *Leu/Leu* генотипом.

Отже, при порівняльному аналізі патогенетичних особливостей туберкульозного процесу й характеру гемостатичних змін у хворих з поліморфними варіантами гену *F13A1*, *Val/Leu* було виявлено наступне:

- частота зустрічальності поліморфних варіантів гена *F13A1*, *Val/Leu* вірогідно не відрізняється від контрольної групи;

- спостерігається статистично достовірне збільшення з віком поширеності *Leu* алелі й достовірне зниження частоти зустрічальності *Val* алелі та *Val/Val* генотипу;

- *Leu/Leu* генотип асоційований з найбільшим зниженням активності фібринстабілізуючого фактору у хворих, що проявляється в достовірному збільшенні показника на 24,5% у порівнянні з контрольною групою. Зазначена тенденція зберігається й через два місяці після початку лікування. У судинно-тромбоцитарній ланці системи гемостазу у хворих з *Leu/Leu* генотипом спостерігається максимальне підвищення кількості тромбоцитів (на 29,9%) і швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (на 40,6%). У плазмовій ланці - максимальне подовження АЧТЧ (на 19,6%) і пригнічення ФАК (на 15,1%). У плазмовій ланці — виражене пригнічення фібринолітичної активності крові (на 15,1 %).

Таблиця 6.11.

Характеристика показників коагулограми в залежності від поліморфних варіантів гену *F13A1*, *Leu/Val*.

№ п.п.	Показ- ник	Контрольна група (n=40)	Хворі на туберкульоз (n=127)					
			Генотип					
			Leu/Leu		Leu/Val		Val/Val	
			До	Через 2 міс.	До	Через 2 міс.	До	Через 2 міс.
1.	КТ	259,5 ± 23,4	337,00 ± 161,00 ¹	247,00 ±	280,92 ± 14,97	344,00 ± 18,99 ¹	320,91 ± 13,11 ¹	351,88 ± 11,38 ¹
2.	АТ	38,4 ± 6,6	54,00 ± 4,20 ¹	39,60 ±	44,63 ± 1,83 ¹	42,04 ± 1,77	43,54 ± 1,44 ¹	42,83 ± 1,46 ¹
3.	ЧРХ	137,1 ± 36,7	132,20 ± 25,60	152,20 ±	129,29 ± 4,69	120,11 ± 6,46	131,43 ± 3,49	124,34 ± 4,60
4.	АЧТЧ	58,6 ± 6,4	70,10 ± 0,30 ¹	62,40 ±	64,66 ± 1,46 ¹	64,43 ± 1,08 ¹	62,69 ± 1,07 ¹	63,97 ± 1,09 ¹
5.	ПЧ	15,4 ± 1,9	17,60 ± 0,60	17,90 ±	17,50 ± 0,45 ¹	16,53 ± 0,41 ¹	16,73 ± 0,31 ¹	16,51 ± 0,32 ¹
6.	ТЧ	16,6 ± 8,3	17,40 ± 0,60	17,80 ±	17,42 ± 0,47	16,51 ± 0,40	16,66 ± 0,29	16,53 ± 0,32
7.	Ф	3,0 ± 1,0	4,11 ± 0,55	4,66 ±	6,34 ± 0,34 ¹	5,64 ± 0,39 ¹	6,44 ± 0,31 ¹	5,52 ± 0,31 ¹
8.	ФАК	170,8 ± 12,4	196,60 ± 2,00 ¹	162,40 ±	174,70 ± 3,03	176,55 ± 3,19	176,40 ± 2,39	175,94 ± 2,07
9.	ФСФ	66,4 ± 9,9	82,70 ± 1,90 ¹	77,60 ±	68,43 ± 1,77	73,17 ± 2,20 ¹	70,67 ± 1,37	74,35 ± 1,52 ¹
10.	РКЗ	0,4 ± 0,06	0,45 ± 0,10	0,38 ±	0,41 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,42 ± 0,01	0,41 ± 0,01
11.	Етан. тест	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ±	0,39 ± 0,07 ¹	0,45 ± 0,11 ¹	0,47 ± 0,06 ¹	0,37 ± 0,08 ¹

Примітки: 1. ¹ - статистично вірогідні зміни між групами хворих до початку та через 2 міс. після початку лікування з контрольною групою.

2. ² - статистично вірогідні зміни між групою хворих до та через 2 місяці після початку лікування ($p < 0,05$).

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Амосова А. В. Состояние системы гемостаза у больных туберкулезом при полиморфизме гена SERPINE1, 4G/5G / Ю. И. Бажора, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова // European Applied Sciences. – 2013. – Vol. 1, N.11. – P. 38–41.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Туберкульоз – це захворювання, що супроводжується вираженою імунною відповіддю організму (розвиток неспецифічної резистентності та гіперчутливості вповільненого типу), яка послідовно стимулює функціональну активність системи гемостазу з залученням усіх її компонентів [32-34].

Деструкція тканин під впливом *M.tuberculosis* у хворих супроводжується появою тромбіну в специфічному вогнищі запалення, який, в свою чергу, потенціює синтез та вивільнення макрофагів, що відіграють основну роль у формуванні неспецифічної резистентності організму. Він гальмує їх міграцію та стимулює фагоцитарну активність. У результаті активації згортальної системи крові відбувається відокремлення патологічного процесу, спрямоване на попередження генералізації інфекції та зупинці кровотечі з пошкоджених судин [174,179].

Активация згортальної системи у хворих на туберкульоз супроводжується пригніченням функціональної активності фібринолітичної системи, та може трансформуватися трансформуються з часом у латентно-перебігаючий синдром внутрішньосудинного згортання крові [24].

Слід зауважити, що незважаючи на бурхливий розвиток теоретичної науки, патофізіологічні механізми зазначених порушень системи гемостазу до кінця не вивчені. Існує багато різних клінічних досліджень, що пояснюють це порушенням детоксикаційної функції печінки або нирок, дією протитуберкульозних препаратів (зокрема ізоніазиду) [32], впливом несприятливих зовнішніх факторів (хронічний алкоголізм, наркоманія тощо), а також кількісним відставанням фібринолітичної ланки від випереджаючої дії своїх власних інгібіторів, що призводить до уповільнення лізису фібрину в судинах. Багатофакторний патогенез та варіабельність прояву клінічних форм

перебігу туберкульозного процесу дозволили припустити вплив генетичних чинників. На сьогоднішній день виявлено цілий ряд поліморфізмів, які прямо або побічно впливають на показники системи гемостазу. Найбільш вагомими та розповсюдженими поліморфними варіантами є: поліморфний варіант гена фактору XIII *F13A1 (Val/Leu)* [58-63], мутантна *Leu* алель якого асоційована з порушенням формування повноцінної структури фібринового згустка. Та поліморфний варіант гена інгібітора активатора плазміногена 1-го типу, *SERPINE1* або *PAI1 (4G/5G)*, *4G* алель якого асоційована з підвищенням синтезу та активності білка в плазмі крові [82-85].

Дані про вплив поліморфних варіантів зазначених генів на функціонування системи гемостазу у хворих на туберкульоз вкрай небагаточисленні, а патофізіологічний аналіз механізмів порушення показників системи гемостазу (в тому числі генетичних), що опосередковано впливають на функціональну активність імунної системи та відповідно на особливості перебігу туберкульозного процесу, є важливим етапом у ранній діагностиці, профілактиці та контролі лікування тромбофілічних станів у пацієнтів. Тому вивчення ролі поліморфних варіантів генів *SERPINE1 (4G/5G)* та *F13A1 (Val/Leu)* в розвитку патофізіологічних механізмів порушень функціонування системи гемостазу при туберкульозній інфекції, а також вивчення впливу цих поліморфізмів на особливості перебігу туберкульозного процесу, є актуальним для практичної та теоретичної медицини.

Під час виконання дисертаційної роботи було досліджено 315 осіб, що були поділені на дві групи. До першої групи – контрольної – були віднесені здорові особи, студенти Одеського національного медичного університету, віком від 17 до 27 років (n=54). Група хворих включала 261 особу, що знаходились на стаціонарному лікуванні в Одеській обласній протитуберкульозній лікарні (ООПТЛ) протягом не менш, ніж два місяці.

Необхідні анамнестичні дані про вік, стать, місце постійного проживання, клінічний діагноз, особливості перебігу туберкульозного процесу, рентгенологічну динаміку, результати клінічних, біохімічних та

бактеріоскопічних досліджень, були отримані при аналізі історій хвороб, згідно дозволу головного лікаря про нерозголошення особистих даних хворих під час проведення дослідження. Основним типом випадку туберкульозу був вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) - 61,2%.

Дослідження стану системи гемостазу у обох групах досліджених осіб проводилося з використанням стандартних гемокоагулологічних тестів на базі лабораторії ООПТЛ. Коагулограма включала: визначення кількості тромбоцитів, швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (АТ), часу рекальцифікації плазми (ЧРП), активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ), протромбінового часу (ПЧ), тромбінового часу (ТЧ), загального фібриногену, фібринолітичної активності крові (ФАК), активності фібринстабілізуючого фактору (ФСФ), ретракції кров'яного згустку (РКЗ), та прокоагуляційного тесту (етанолового) [135,181].

Для визначення хронометричних і амплітудних констант гемокоагуляції застосували метод низькочастотної п'єзоелектричної гемовіскозіметрії (НПГК) за допомогою аналізатора реологічних властивостей крові портативного АРП – 01 «Меднорд» (м.Томськ, Російська Федерація), що призначений для клінічних досліджень агрегатного стану крові, аналізу й інтегративної оцінки гемокоагуляції та фібринолізу.

Для вивчення макромолекулярного складу плазми крові використовували метод лазерної кореляційної спектроскопії, що відображає стан системного гомеостазу організму.

Молекулярно-генетичні дослідження проводилися в Науково-дослідницької лабораторії актуальних інфекцій клінічної біофізики Одеського національного медичного університету. Виділення поліморфних варіантів досліджуваних генів відбувалося за допомогою метода полімеразної ланцюгової реакції з послідуною ендонуклеазною рестрикцією та електрофорезом з плазми крові досліджуваних осіб.

Статистична обробка отриманих результатів відбувалась з використанням програми Statistica 6.0. Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (p) приймався рівним 0,05.

У хворих в динаміці перебігу туберкульозного процесу були виявлені порушення плазмової та фібринолітичної ланок системи гемостазу, що проявлялися в прокоагуляційному зрушенні та наростаючому пригніченні фібринолізу. Наростання гіперкоагуляційного потенціалу входить до комплексу патофізіологічних реакцій системної запальної відповідь організму на наявність збудника мікобактерій та поєднує в собі не тільки активацію згортання крові, а й пригнічення фібринолізу [40,43-45,48].

Аналіз гемостатичних показників у хворих на туберкульоз на момент госпіталізації виявив статистично вірогідне ($p < 0,05$) підвищення рівня швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів, та концентрації фібриногену у порівнянні зі здоровими особами. Через два місяці після початку стаціонарного лікування у хворих спостерігалось достовірне збільшення активності фібрин-стабілізуючого фактору, скорочення часу рекальцифікації крові та зниження фібринолітичної активності крові, ніж на початку лікування. В динаміці у хворих відбувалась помірна стабілізація концентрації фібриногену у порівнянні з контрольною групою, проте вказані зміни не виступають однозначним критерієм для оцінки ефективності отриманого лікування та покращення стану хворих стосовно системи гемостазу. Ця ситуація, в значній мірі, може бути пов'язана з виснаженням пулу коагуляційних факторів та наявністю патології печінки, що виникає внаслідок гепатотоксичного впливу протитуберкульозних препаратів, де відбувається синтез переважної кількості факторів згортання крові [132,182].

Порівняльний статистичний аналіз отриманих результатів змін гемокоагулологічних показників у різних групах хворих до та через два місяці після початку стаціонарного лікування і у порівнянні з результатами коагулограми здорових людей, підтвердив у всіх групах пацієнтів наявність активації гемостатичних процесів, що проявляються у вигляді

гіперкоагуляційного синдрому, та поєднується в динаміці з пригніченням фібринолітичної системи крові. Отримані результати, в цілому, співпадають з даними стану системи гемостазу, що були отримані в інших дослідженнях [38,39, 40,43-45,48,128]. Нами була встановлена також асоціація коагуляційних змін з особливостями перебігу туберкульозного процесу. В групі хворих з позитивним результатом бактеріологічного дослідження визначався вірогідно більший рівень концентрації загального фібриногену, ніж у хворих без бактеріовиділення. Гіперфібриногенемія є наслідком надмірної активації згортальної системи крові, що може бути пояснена з патофізіологічної точки зору наростанням інтоксикаційного синдрому, збільшенням кількості продуктів розпаду життєдіяльності *M.tuberculosis* внаслідок збільшення їх кількості. Активність згортальної системи крові була вища у пацієнтів без резистентності. Наявність гіперкоагуляції можна розцінювати як прояв «синдрому системної запальної відповіді», обов'язковим компонентом якої є активація системи гемостазу та внутрішньосудинного згортання крові різної ступені, що вища у хворих з не резистентними штамми. З патогенетичної точки зору вказані зміни також можуть бути наслідком того, що нерезистентним штаммам притаманна більш виражена життєздатність та активність до розмноження, ніж резистентним [175,176,184]. Внаслідок цього у групі хворих з не резистентними мікобактеріями на госпітальному етапі відбувалися більш інтенсивні інтоксикаційні процеси, що зумовлюють стимулювання згортального компоненту системи гемостазу та запальної системи.

Для більш детального аналізу стану системи гемостазу хворих на туберкульоз легенів, нами було застосовано новий метод реєстрації агрегатного стану крові – низькочастотної вібраційної п'єзоелектричної гемовіскозіграфії (НПГК) (м.Томськ, Російська Федерація) [137,138]. Метод дозволив провести комплексну експрес оцінку змін стану системи гемостазу з безпосереднім спостереженням кінетики змін судинно-тромбоцитарної, коагуляційної та фібринолітичної ланок системи гемостазу. Результати аналізу стану системи гемостазу співпадали з даними коагулограми. Проте метод НПГК виявився

більш економічним, високоточним, інформативним методом діагностики, отримані дані легко інтерпретувати, що дозволило виявити порушення функціонування гемостатичної системи у хворих при надходженні до стаціонару. Рання діагностика розладів в системі гемостазу зумовлює їх своєчасну корекцію, що може зменшити кількість небажаних наслідків та полегшити перебіг процесу.

Оцінка стану системи гемостазу неможлива без аналізу функціонування системного гомеостазу. Одним із важливих чинників гомеостазу є певне співвідношення макромолекулярних фракцій плазми крові. Для його вивчення ми застосували метод лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС). Метод для дослідження необхідний невеликий об'єм плазми крові. Автоматично опрацьовані комп'ютером дані дозволяють швидко отримати кінцеві результати [138].

У хворих на туберкульоз на тлі зрушення стану системи гемостазу в бік коагуляції та невираженого пригнічення фібринолізу в плазмі крові було виявлене вірогідне ($p < 0,05$) збільшення внеску в світлорозсіювання часток з гідродинамічним радіусом від 12 до 38 нм та зниження внеску часток від 39 до 95 нм, що може сказувати на активне формування імунних комплексів в організмі. Через два місяці після початку курсу хіміотерапевтичного лікування у хворих відзначалось суттєве ($p < 0,05$) збільшення внеску в світлорозсіювання рівня більших часточок з радіусом від 39 до 264 нм, що може бути результатом активного синтезу імунних комплексів та притаманно для аутоімунно-інтоксикаційно-подібних зсувів в ЛК-спектрах плазми крові. Зростання інтоксикаційного синдрому, що пов'язаний з накопиченням в організмі пацієнта продуктів розпаду життєдіяльності *M.tuberculosis* і різних метаболітів, зумовлює опосередковану активацію коагуляційного каскаду. Використання ЛКС-метрії дозволило встановити, що у 2/3 хворих через два місяці після курсу стандартної протитуберкульозної терапії визначався високий рівень інтоксикаційно-подібних, а також катаболічно- і дистрофічно-подібних порушень. Високий

рівень інтоксикаційних зсувів може бути викликаний порушенням або детоксикаційної функції печінки, або – нирок.

Нормалізація функціональної активності цих органів є невід'ємним, нарівні з хіміотерапією, етапом протитуберкульозного лікування, що впливає на ступінь вираженості змін функціонального стану системи згортання крові у хворих на туберкульоз.

Патогенетичні механізми порушення стану системи гемостазу у хворих на туберкульоз є складними та впливають на перебіг та наслідки туберкульозного процесу [185,186]. На цей час доведена роль генетичних чинників, що впливають на функціональний стан системи гемостазу, у формуванні зсуву в бік коагуляції [61,84]. Аналіз впливу генетично обумовленого поліморфізму генів інгібітору активатору плазміногену 1-го типу крові (*SERPINE*) та гену фібринстабілізуючого фактору (*F13A1*) виявив, що вказані поліморфізми впливають на зміни показників системи гемостазу у хворих та на особливості перебігу туберкульоз .

В ході наших дослідження було встановлено, що частота зустрічаємості поліморфних варіантів генів *SERPINE1*, *4G/5G* та *F13A1*, *Val/Leu* у хворих на туберкульоз вірогідно не відрізняється від контрольної групи та відповідає частоті алелей, встановлених для європеїдної раси [58,82].

У хворих після за 60 років за нашими даними не зустрічався *5G/5G* генотип, проте було виявлене статистично вірогідне збільшення зустрічаємості поліморфного *Leu* алеля. Вказано, що цей алель зумовлює порушення кінетики зшивання фібрину та вірогідне зниження частоти *Val* алеля й *Val/Val* генотипу [61-68].

Характер коагуляційних порушень проявлявся у подовженні часу рекальцифікації крові після двохмісячного курсу лікування в групі хворих з *5G/5G* генотипом ($p=0,006$), що може свідчити про зниження активності згортальної системи крові у хворих з таким генотипом.

Нами була встановлена також асоціація *5G/5G* генотипу з характером бактеріовиділення. Для хворих з бактеріовиділенням притаманна найменша

частота зустрічаємості *5G/5G* генотипу у порівнянні з групою без бактеріовиділення. У хворих на ВДТБ частота *5G/5G* генотипу також зустрічалась найменше з усіх типів випадку туберкульозу, що побічно може свідчити про більш виражене пригнічення фібринолітичної системи саме у цих хворих, та відповідне збільшення продуктів коагуляції в плазмі крові.

В ході дослідження нами було також визначено, що *4G/4G* генотип асоційований з максимальним зниженням інтенсивності фібринолітичної активності крові у хворих на туберкульоз ($p < 0,05$).

Частота *4G* алелі істотно частіше ($p < 0,05$) зустрічалась у хворих без деструктивних процесів в легенях, що може виступати протективним чинником розвитку розпаду специфічного вогнища запалення в тканині легенів.

В наших дослідженнях встановлено, що *Leu/Leu* генотип асоційований з максимальним зниженням активності фібринстабілізуючого фактору у хворих, що проявлялось у вірогідному збільшенні показника на 24,5% у порівнянні з іншими генотипами. Вказані зміни виявлялись через два місяці після початку терапевтичного курсу В судинно-тромбоцитарній ланці системи гемостазу у хворих з *Leu/Leu* генотипом встановлено максимальне підвищення кількості тромбоцитів (на 29,9%) та швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (на 40,6%). У плазмовій ланці - максимальне пригнічення фібринолітичної активності крові (на 15,1%).

Таким чином, резюмуючи вищесказане, слід зазначити, що поліморфний *4G* алель гена *SERPINE1* збільшує синтез і активність ІАП -1, який інгібує активатори фібринолізу, знижує ступінь перетворення плазминогена в плазмін, який розчиняє стабільні фібрин-полімерні згустки. В результаті цього в організмі знижується рівень плазміну, відбувається нагромадження нерозчинних згустків, що виражається в пригніченні фібринолізу й прокоагуляційному зрушенні.

Мутантний алель *Leu* гена *F13A1*, у свою чергу, змінює молекулярну структуру зшивання фібринполімерів, формуючи згустки з більш тонкою сітчастою структурою зі зниженою проникністю до формених елементів.

Функціональна активність фібринстабілізуючого фактору знижена, у результаті чого в організмі утворюються згустків порушеної структури (нестабільні), що на тлі зменшеного фібринолізу, приводить до їхнього нагромадження й вносить свій внесок у порушення функціонування системи гемостазу.

Отримані результати розширюють нашу уяву про фізіологічні механізми порушення функціонування системи гемостазу з урахуванням генетичних особливостей інфікованої людини, що впливають на патогенетичні процеси розвитку, перебігу та результату туберкульозу (Рис.7.1). Визначення особливостей впливу генних поліморфізмів на характер змін в системі гемостазу має значення для прогнозування розвитку та завчасної профілактики несприятливих наслідків туберкульозу.

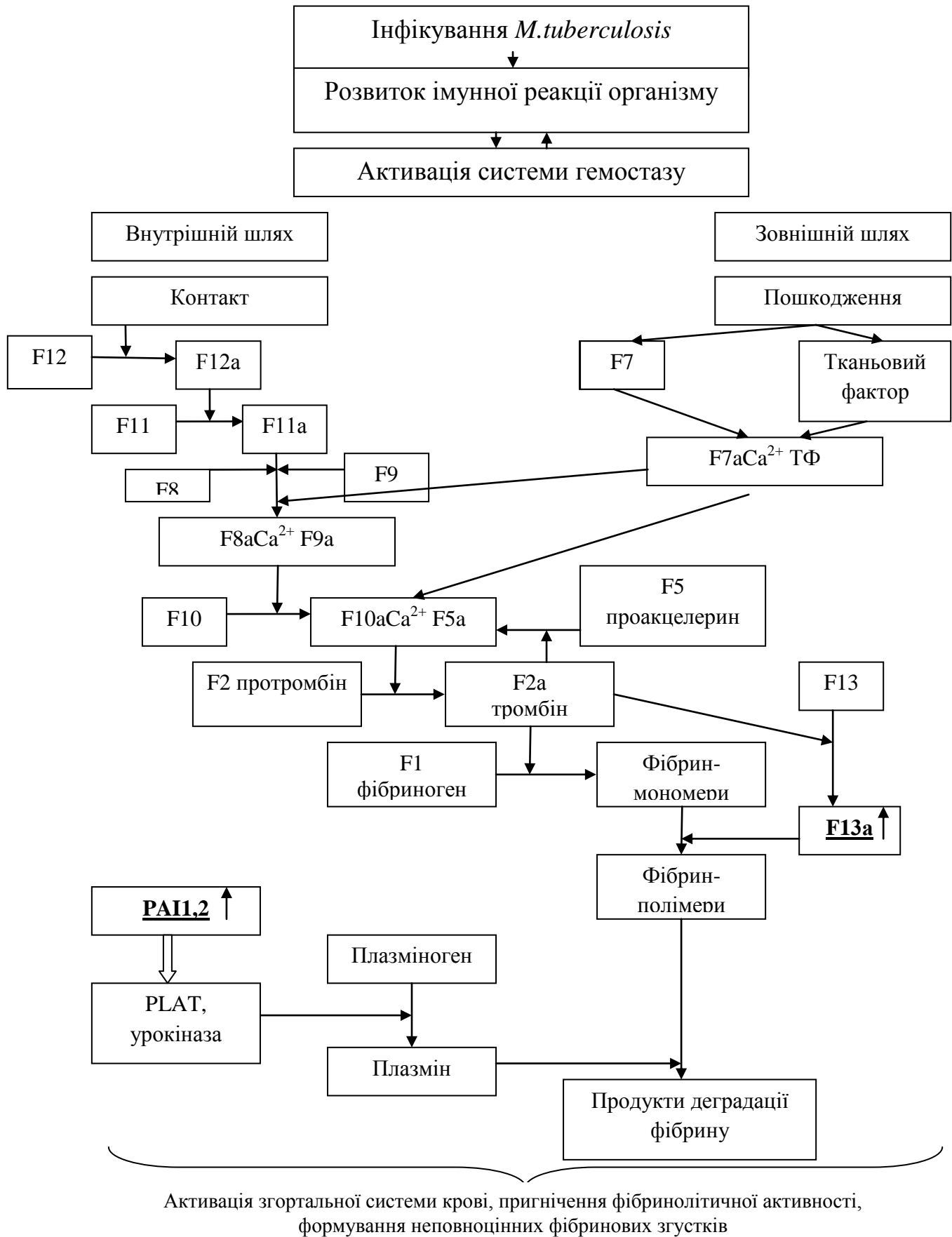


Рис. 7.1. Особливості порушення стану системи гемостазу при туберкульозній інфекції. —↑активація, —↓інактивація.

Результати дослідження можуть бути використані в практичній роботі протитуберкульозних закладів для удосконалення профілактичних, діагностичних та лікувальних заходів. Своєчасне визначення груп ризику та моніторинг перебігу інфекційного процесу дозволить сформувати групи хворих ризику розвитку несприятливого результату, оптимізувати лікування та оптимізувати профілактичні заходи гемостатичних ускладнень у хворих на туберкульоз. Це стане можливим при проведенні подальших молекулярно-епідеміологічних досліджень для виявлення частот поліморфних варіантів генів, контролюючих «гарячі» точки каскадів згортання крові та фібринолізу в регіоні в цілому та їх співвідношення з поліморфізмом генів ферментів детоксикації ксенобіотиків та чутливості до інфікування мікобактеріями туберкульозу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та нове розв'язання наукового питання патологічної фізіології, що дозволяє встановити особливості патогенетичних механізмів порушень функціонування стану системи гемостазу в залежності від впливу поліморфних варіантів генів гемостатичної системи (*SERPINE1*, *4G/5G* і *F13A1*, *Val/Leu*) на особливості перебігу туберкульозного процесу.

1. У хворих в динаміці перебігу туберкульозного процесу виявлене порушення коагуляційної та фібринолітичної ланок системи гемостазу, що проявляється в прокоагуляційному зрушенні й пригніченні фібринолізу. Зміни показників системи гемостазу у хворих пов'язані з позитивним результатом бактеріологічного дослідження, відсутністю деструктивних процесів в легенях і резистентності мікобактерій до протитуберкульозних препаратів ($p < 0,05$).

2. Встановлені особливості динаміки утворення та лізису кров'яного згустка у хворих на туберкульоз з відображенням кінетики змін, що відбуваються в системі в цілому, порівняно зі здоровими особами, при застосуванні експрес-методу низькочастотної п'єзоелектричної гемокоагулографії. Найбільші вірогідні відмінності знайдені для показників інтенсивності контактної фази коагуляції (збільшення активності на 79,3 %), максимальної щільності згустка (збільшення на 167,9 %) та інтенсивності ретракції й лізису згустка (збільшення активності на 83,3 %).

3. У хворих на туберкульоз легенів на тлі активації системи гемостазу й невираженого пригнічення фібринолізу в плазмі крові відбувається вірогідне збільшення внеску в світлорозсіювання частинок з гідродинамічним радіусом від 12 до 38 нм та зниження внеску частинок радіусом від 39 до 95 нм. Через два місяці після початку курсу хіміотерапевтичного лікування у хворих відзначається суттєве збільшення внеску в світлорозсіювання рівня великомолекулярних частинок радіусом від 39 до 264 нм, що може бути результатом активного формування імунних комплексів.

4. В ході дослідження встановлено, що частота зустрічальності поліморфних варіантів генів *SERPINE1*, *4G/5G* і *F13A1*, *Val/Leu* у хворих на туберкульоз вірогідно не відрізняється від здорових осіб. Показано, що у хворих з поліморфізмом гена *SERPINE1*, *4G/5G* після 60 років відбувається зниження частоти *5G/5G* генотипу ($\chi^2=11,6$; $p=0,001$; 95% CI 32,1 – 107,9), що відповідає нормальному рівню інгібітора активатора плазміногену 1-го типу в плазмі крові у порівнянні з групою хворих від 20 до 44 років (I вікової категорії).

5. При поліморфізмі гена *F13A1(Val/Leu)* у хворих спостерігається вірогідне збільшення частоти зустрічальності поліморфного *Leu* алеля, який зумовлює порушення кінетики зшивання фібрину у хворих після 60 років у порівнянні з хворими від 20 до 44 років ($\chi^2=5,06$; $p=0,003$; RR = 0,56; 95% CI 0,34 – 0,93) і від 45 до 59 років ($\chi^2=4,02$; $p=0,005$; RR = 0,49; 95% CI 0,25 – 0,95). Вказані зміни супроводжуються також відповідним вірогідним зниженням у хворих після 60 років частоти *Val* алеля у порівнянні з хворими від 20 до 44 років ($\chi^2=5,06$; $p=0,003$; RR = 1,80; 95% CI 1,01 – 1,38) і від 45 до 59 років ($\chi^2=4,02$; $p=0,005$; RR = 1,26; 95% CI 0,94 – 1,68). Також спостерігалось зниження частоти *Val/Val* генотипу у хворих після 60 років у порівнянні з хворими від 20 до 44 років ($\chi^2=7,57$; $p=0,006$; RR = 1,64; CI 1,09 – 2,44).

6. Встановлена асоціація *5G/5G* генотипу (що відповідає за нормальний рівень інгібітора активатора плазміногену 1-го типу в плазмі крові) з характером бактеріовиділення. У хворих з позитивним результатом бактеріологічного дослідження спостерігається зниження частоти зустрічальності *5G/5G* генотипу у порівнянні з групою без бактеріовиділення ($\chi^2=7,32$; $p=0,007$; RR = 0,15; 95% CI 0,03 – 0,61). У хворих на вперше діагностований туберкульоз відмічається також зниження частоти *5G/5G* генотипу у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2=6,0$; $p=0,01$; RR = 3,74; CI 1,20 – 11,65). Частота зустрічальності *4G/4G* генотипу (що відповідає за підвищений рівень інгібітора активатора плазміногену 1-го типу в плазмі крові) більше у хворих без деструктивних процесів в легенях у порівнянні з хворими з наявною

деструкцією ($\chi^2=8,35$; $p=0,04$; $RR = 2,22$; 95% CI 1,23 – 4,03). Знайдено також, що *4G/4G* генотип асоційований з максимальним зниженням інтенсивності фібринолітичної активності крові серед інших генотипів поліморфного гена *SERPINE1*, *4G/5G* і максимальним підвищенням рівня загального фібриногену (на 124,3 %; $p<0,05$) у хворих. у хворих на туберкульоз.

7. *Leu/Leu* генотип гена *F13A1* асоційований з найбільшим зниженням активності фібринстабілізуючого фактора у хворих, що відповідає вірогідному збільшенню показника на 24,5% у порівнянні з іншими генотипами на початку лікування ($p<0,05$). У судинно-тромбоцитарній ланці системи гемостазу у хворих з *Leu/Leu* генотипом встановлено максимальне підвищення кількості тромбоцитів (на 29,9%) та швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (на 40,6%). У плазмовій ланці - виражене пригнічення фібринолітичної активності крові (на 15,1%).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global tuberculosis control – epidemiology, strategy, financing. WHO Report 2009 [Електронний ресурс] - Режим доступу до документу: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/en/index.html
2. WHO report 2010. Global tuberculosis control // [Електронний ресурс] - Режим доступу до документу: www.who.int.
3. Anti-tuberculosis drug-resistance in the world. Report N 4. [Електронний ресурс] - Режим доступу до документу: <http://www.who.int>
4. Getahun H, Raviglione M. Active case-finding for TB in the community: time to act / H Getahun, M Raviglione // *The Lancet*. – 2010. – Vol. 376. – No. 10. – P. 1205 – 1206.
5. Atun R, Raviglione M, Marais B. Tuberculosis control is crucial to achieve the MDGs / R Atun, M Raviglione, B Marais // *The Lancet*. – 2010. – Vol. 376. – No. 9. – P. 940 – 941.
6. Phillips L. Tb's revenge / L. Phillips // *Nature*. – 2013. - Vol. 493. – No. 3. – P. 14-16.
7. Lawn S, Zumla A. Tuberculosis / S. Lawn, A. Zumla // *The Lancet*. – 2011. – Vol. 378. – P. 57-72.
8. Cohen J. Reversal of misfortunes / J. Cohen // *Science*. – 2013. – Vol. 339. – P. 898-903.
9. Paulson T. A mortal foe / T. Paulson // *Nature*. – 2013. – Vol 502. – No. 7470. – P. 2-3.
10. Фещенко Ю.І. Пропозиції щодо поліпшення контролю за туберкульозом в Україні//Доповідь на нараді в МОЗ України 7 лютого 2008 року. [Електронний ресурс] - Режим доступу до документу: http://www.ifp.kiev.ua/index_ukr.htm
11. Резолюція IV з'їзду фтизіатрів і пульмонологів України, м. Київ, 20 – 22 жовтня 2008 р. [Електронний ресурс] - Режим доступу до документу: http://www.ifp.kiev.ua/index_ukr.ht

12. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины (пер.с англ.) / Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. — Москва: Медиа Сфера, 1998. — 352 С.
13. Rodríguez-Flores E, Campuzano J, Aguilar D. The response of the fibrinolytic system to mycobacteria infection / E Rodríguez-Flores, J Campuzano, D Aguilar // Tuberculosis. – 2012. - Nov. – No. 92(6) – P. 497-504.
14. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М. «Медицина», 1989. 320 с.
15. Буевич Е.И. Сосудисто-тромбоцитарные нарушения и генетический полиморфизм системы гемостаза у больных гемофилией// Бюллетень сибирской медицины.- 2008, прил.2. – С.20-27.
16. Запорожан В.М. Генетична медицина/ В.М. Запорожан, В.А. Кордюм, Ю.І. Бажора та ін.; За ред.. В.М. Запорожана. – Одеса: Одес.держ.мед.ун-т, 2008. – 432 с. – Рос.мова.
17. Клаг. У. Основы генетики/ У. Клаг, М. Каммингс. Москва: Техносфера, 2000. – 896 с.
18. Некоторые закономерности иммунного ответа у больных туберкулезом легких с лекарственно-устойчивыми штаммами микобактерий / И.Я. Сахарова, Б.М. Ариэль, Б.Е. Кноринг [и др.] // Пробл. Туб. – 2008. - № 12. - С. 22 – 27.
19. Особенности функционирования иммунной системы при туберкулезной инфекции / Т.Е. Тюлькова, Ю.П. Чугаев, Э.А. Кашуба [и др.] // Пробл. Туб. – 2008. - № 11. – С. 48 – 55.
20. Худзик Л. Б. Геморогические осложнения у больных туберкулезом легких / Л. Б. Худзик, Б. И. Кузник, В. Ф. Киричук. – изд-во Сарат. ун-та. - 1988. – 152 с.
21. Сукманский О. И. Неспецифическая резистентность организма / О. И. Сукманский // Вісник стоматології. – 2008. - № 4. – С.29-31.
22. Сукманський О. І. Сучасні уявлення про вроджений імунітет / О. І. Сукманський, І. О. Сукманський // Фізіологічний журнал. – 2012. - № 5. – С.84-89.

23. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis* / M. Caws, G. Thwaites, S. Dunstan [et al.] // PLoS Pathog.- 2008. – V.4.- 450-457.
24. Баркаган З. С. Место компонентов системы гемостаза в терапии ДВС – синдрома и тромбофилий / З. С. Баркаган // Гематология и трансфузиология. – 2005. – Том 50. - № 6. – С. 9-12.
25. Приймак А. А. Нарушения в системе гемостаза у больных туберкулезом легких / А. А. Приймак, А. Н. Макинский, Т. П. Иванько [та ін.] // Проблемы туберкулеза. – 1995. - № 1. – С. 33-35.
26. Hoffman R. Hematology. Basic principles / R. Hoffman // Elsevier. -2008. - 616 p.
27. Виговська Я. І. Система гемостазу (лекція) / Я. І. Виговська // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2003. - № 5(3). – С. 53 – 58.
28. Григорьева Н. Роль тромбоцитов в иммунных реакциях и процессах метастазирования / Н. Григорьева // [Электронный ресурс]. – Библиотека ДВГМУ. – fesmu.ru/
29. Характер специфического иммунного ответа и продукция цитокинов мононуклеарами больных разными формами туберкулеза легких / Б.Е. Кноринг, И.С. Фрейдлин, А.С. Симбирцев [и др.] // Мед.иммуноло.- 2001. – №1. - С. 61-68.
30. Маянский А.Н. Туберкулез (микробиологические и иммунологические аспекты) / А.Н. Маянский // Иммунология. – 2001. - № 2. – С. 53 – 63.
31. Maartens G. Tuberculosis / G. Maartens, R. J. Wilkinson // Lancet. – 2007. – Vol. 370. – P. 2030-2041.
32. Инсанов Али. Туберкулез/Али Инсанов. – М.: ГЭОТАР, 2005. – 704 С.
33. Гущин И. С. Актуальные проблемы патофизиологии: избранные лекции / под ред. Б. Б. Мороза. – М.: Медицина, 2001. – 424 с.
34. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. Москва, Медицина, 1988, с.34.

35. Титов В.Н. С-реактивный белок: гетерогенность и функциональная связь с окислительным стрессом как с маркером воспаления / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 7. – С. 3-12.

36. Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphism in host susceptibility to tuberculosis / R. Bellamy, C. Ruwende, T. Corrah [et al.] // Tubercule and Lung disease. – 1998.- Vol.79. – P. 83–89.

37. Wynn T., Chawla A. Macrophage biology in development, homeostasis and disease / T. Wynn, A. Chawla // Nature. – 2013. –Vol. 496. - P. 445-455.

38. Vynnycky E. The natural history of tuberculosis: the implication of age-dependent risks of disease and the role of reinfection / E.Vynnycky, P.E Fine. // Epidemiol. Infection.- 1997. - V.119. - P. 183-201.

39. Рыжкова О. А. Структурный анализ сыворотки крови при туберкулезе: монография / О. А. Рыжкова, Е. Н. Стрельцова, А. К. Аюпова. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский Университет», 2010. – 82 с.

40. Абдуллаев Р. Сдвиг в системе гемостаза – компонент синдрома системного воспалительного ответа при туберкулезе легких / Р. Абдуллаев, Г. Каминская, О. Комиссарова // Врач. – 2012. - № 2. – С. 24-28.

41. Сеницын М. А. Изменение гемостаза при повторных операциях у фтизиопульмонологических больных / М. А. Сеницын // Проблемы туберкулеза. – 2001. - № 9. – С. 21-23.

42. Процюк Р. Г. Туберкульоз, ВІЛ-інфекція / СНІД: навч. посіб. / Р. Г. Процюк, В. Ф. Москаленко, В. І. Петренко та ін.; за ред. чл.-кор., проф. В. Ф. Москаленка, д-ра мед. наук, проф. Р. Г. Працюка. - К.: Медицина, 2009. – 424 с.

43. Каминская Г. О. Исследование тромбоцитарной и плазменной систем гемостаза у больных туберкулезом легких / Г. О. Каминская, Е. В. Мартынова, Б. А. Серебряная // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2007. - № 4. – С. 38-41.

44. Каминская Г. О. Состояние антисвертывающей системы крови при гиперкоагуляционном синдроме у больных туберкулезом легких / Г. О.

Каминская, Е. В. Мартынова, Б. А. Серебряная [та ін.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. - № 11. – С. 35-37.

45. Fujita M. Disseminated intravascular coagulation associated with pulmonary tuberculosis / M. Fujita, R. Kunitake, Y. Nagano [та ін.] // Internal medicine. – 1997. – Vol. 36. - № 3. – С.218-220.

46. Дубров С. О. Профілактика венозних тромбоемболічних ускладнень у пацієнтів у торакальній хірургії / С. О. Дубров, Ф. С. Глумчер, О. О. Гавриченко [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2012. - № 1 (19). – С.43-46.

47. Шмелев Е.И. Совершенствование лечения бронхиальной обструкции у больных туберкулезом легких / Е.И. Шмелев // Пульмонология. - 2001. – Вып. 1. – С. 23-27.

48. Шмелев Е.И. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания / Е.И. Шмелев // Пульмонология. - 2007. – Вып. 2. – С. 5-9.

49. Каминская Г. О. Состояние фибринолитической системы при гиперкоагуляционном синдроме у больных туберкулезом легких / Г. О. Каминская, Е. В. Мартынова, Б. А. Серебряная [та ін.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2009. - № 3. – С. 51-54.

50. Фещенко Ю.І. Сучасні методи діагностики, лікування і профілактики туберкульозу/ Ю.І. Фещенко, В.М. Мельник - К.: Здоров'я, 2002. – 904 С.

51. Роль комплексного генетического прогноза в лечении и профилактике туберкулеза органов дыхания у подростков / М.В. Павлова, Л.А. Скворцова, М.Н. Кондакова [и др.] // Проблемы туберк. и болезней легких – 2005. - № 9. – С. 30 – 33.

52. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции/Ю.И. Бажора, В.И Кресюн., Ю.И. Фещенко [и др.] - Одеса: Одес.держ.мед.ун-т, 2005. - 296 С.

53. Геномика – медицине. Научное издание / Под ред. академика РАМН В. И. Иванова и академика РАН Л. Л. Киселева. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. – 392 с.:ил.
54. Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. Геном человека и гены «предрасположенности». (Введение в предиктивную медицину). СПб, «Интермедика», 2000 – 272 с.
55. Львова О. А. Генетически детерминированные нарушения гемокоагуляции как причина ишемических инсультов у детей / О. А Львова, О. П. Ковтун, Д. А. Чегодаев // Журнал неврологии и психиатрии. – 2011. - № 2. – С. 3-9.
56. Макаров О.В., Озолия Л.А., Шполянская Н.Ю., Патрушев Л.И. Роль генетических факторов в развитии тромбофилий в акушерстве и гинекологии // Русский медицинский журнал. С.7-9.
57. Малыгина Н.А. О наследственной предрасположенности и профилактике инфаркта миокарда / Журнал "Будь здоров", 2002, №8, стр.30-32.
58. Takahashi, N., Takahashi, Y., Putnam, F. W. Primary structure of blood coagulation factor XIIIa (fibrinolygase, transglutaminase) from human placenta. / N. Takahashi, Y. Takahashi, F. W. Putnam Proc. // Nat. Acad. Sci. – 1986. – Vol.83. – P. 8019-8023
59. Марри Р. Биохимия человека / Р. Мари // Москва: «Мир». – 2004. – Т. 2. – С. 325-331.
60. Ichinose, A., Davie, E. W. Characterization of the gene for the a subunit of human factor XIII (plasma transglutaminase), a blood coagulation factor // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1988. – Vol. 85. – P. 5829-5833
61. Mikkola, H., Syrjala, M., Rasi, V., Vahtera, E., Hamalainen, E., Peltonen, L., Palotie, A. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. // Blood. – 1994. – Vol. 84. P. 517-525

62. Kohler, H. P., Stickland, M. H., Ossei-Gerning, N., Carter, A., Mikkola, H., Grant, P. J. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79. P 8-13.
63. Suzanne Cheng A Multilocus Genotyping Assay for Candidate Markers of Cardiovascular Disease Risk // www.genome.org
64. Veysel Sabri Hancer The Association Between Factor XIII Val/Leu Polymorphism and Early Myocardial Infarction// *Circ J.* – 2006. – Vol. 70. P 239 – 242.
65. Catto, A. J., Kohler, H. P., Bannan, S., Stickland, M., Carter, A., Grant, P. J. Factor XIII val34-to-leu a novel association with primary intracerebral hemorrhage // *Stroke.* – 1998. – Vol. 29. – P. 813-816
66. Franco, R. F., Reitsma, P. H., Lourenco, D., Maffei, F. H., Morelli, V., Tavella, M. H., Araujo, A. G., Piccinato, C. E., Zago, M. A. Factor XIII val34-to-leu is a genetic factor involved in the aetiology of venous thrombosis // *Thromb. Haemost.* – 1999. – Vol. 81. – P. 676-679,
67. Corral J. The FXIII Val/Leu polymorphism in venous and arterial thromboembolism // *Haematologica.* – 2000. – Vol. 85. – P. 293-297.
68. Ariens, R. A. S., Philippou, H., Nagaswami, C., Weisel, J. W., Lane, D. A., Grant, P. J. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure // *Blood/* - 200. Vol. 96. P. 988-995.
69. Kangsadalampai S. The Val/Leu Polymorphism in the A Subunit of Coagulation Factor XIII Contributes to the Large Normal Range in Activity and Demonstrates That the Activation Peptide Plays a Role in Catalytic Activity // *Blood* – 1998. – Vol. 92. – P. 2766-2770
70. Reiner, A. P., Heckbert, S. R., Vos, H. L., Ariens, R. A. S., Lemaitre, R. N., Smith, N. L., Lumley, T., Rea, T. D., Hindorff, L. A., Schellenbaum, G. D., Rosendaal, F. R., Siscovick, D. S., Psaty, B. M. Genetic variants of coagulation factor XIII, postmenopausal estrogen therapy, and risk of nonfatal myocardial infarction // *Blood.* – 2003. – Vol. 102. – P. 25-30

71. Shafey, M., Anderson, J. L., Scarvelis, D., Doucette, S. P., Gagnon, F., Wells, P. S. Factor XIII Val34Leu variant and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis // *Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 97. – P. 635-641
72. Pastinen T, Perola M, Niini P, Terwilliger J, Salomaa V, Vartiainen E, Peltonen L, Syvänen A. Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population // *Hum Mol Genet.* – 1998. – Vol. 7(9). – P. 1453-62.
73. Anke-Hilse Maitland-van der Zee The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13A1) on the effectiveness of statins: the GenHAT study // *Pharmacogenet Genomics.* – 2009. Vol. 19 (5). – P. 338–344.
74. Butt C, Zheng H, Randell E, Robb D, Parfrey P, Xie YG. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction // *Blood.* – 2003. – Vol. 101(8). – P. :3037-41.
75. Donato Gemmati Factor XIII A-V34L and Factor XIII B-H95R Gene Variants: Effects on Survival in Myocardial Infarction Patients // *MOLMED* 13 - 2007 (1 - 2) 112 – 120
76. Shen Y, Yang T, Jia L. A potential role for D-dimer in the diagnosis of tuberculous pleural effusion / Y Shen, T Yang, L Jia // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2013. – No. 17(2). – P. 201-205.
77. Pai N, Ghosh K, Shetty S. Hereditary thrombophilia in cerebral venous thrombosis: a study from India. / N Pai, K Ghosh, S Shetty // *Blood Coagul Fibrinolysis.* - 2013. – No 24(5). – P. 540-543.
78. Sharif-Kashani B, Bikdeli B, Ehteshami-Afshar S. Wells' prediction rules for pulmonary embolism: valid in all clinical subgroups? / B Sharif-Kashani, B Bikdeli, S Ehteshami-Afshar // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2012. – No. 23(7). – P. 614-618.
79. Bentley J. P. Cardiovascular risk associated with interactions among polymorphisms in genes from the renin-angiotensin, bradykinin, and fibrinolytic

systems / J. P. Bentley, F. W. Asselbergs, C. S. Coffey [та ін.] // PLoS One. – 2010. - № 15. – C. 10.1371.

80. Mszbek L. The involvement of blood coagulation factor XIII in fibrinolysis and thrombosis / L. Muszbek, Z. Bagoly, Z. Bereczky [та ін.] // Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry. – 2008. - № 6. – C.190-205.

81. Elmahgoub IR, Afify RA. Prevalence of coagulation factor XIII and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms among Egyptian women suffering from unexplained primary recurrent miscarriage. / IR Elmahgoub, RA Afify // J Reprod Immunol. – 2014 – Jun. – No.103. – P. 18-22.

82. Ginsburg, D., Zeheb, R., Yang, A. Y., Rafferty, U. M., Andreasen, P. A., Nielsen, L., Dano, K., Lebo, R. V., Gelehrter, T. D. cDNA cloning of human plasminogen activator-inhibitor from endothelial cells // J. Clin. Invest. – 1986. – Vol. 78. – P.1673-1680

83. Mehta, R., Shapiro, A. D. Plasminogen activator inhibitor type 1 deficiency // Haemophilia. – 2008. – Vol. 14. – P. 1255-1260.

84. Loskutoff, D. J., Linders, M., Keijer, J., Veerman, H., van Heerikhuizen, H., Pannekoek, H. Structure of the human plasminogen activator inhibitor 1 gene: nonrandom distribution of introns // Biochemistry. – 1987. – Vol. 26. – P.3763-3768.

85. Dawson, S. J., Wiman, B., Hamsten, A., Green, F., Humphries, S., Henney, A. M. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 10739-10745

86. Eriksson, P., Kallin, B., van t'Hooft, F. M., Bavhenolm. P., Hamsten, A. Allelic-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1995. – Vol. 92. – P. 1851-1855.

87. Erickson, L. A., Fici, G. J., Lund, J. E., Boyle, T. P., Polites, H. G., Marotti, K. R. Development of venous occlusions in mice transgenic for the plasminogen activator inhibitor-1 gene. // Nature/ - 1990. – Vol. 346. – P. 74-76.

88. Затеищиков Д.А. Полиморфный маркер 4G (-675)5G гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа и система гемостаза у больных ишемической болезнью сердца// Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – 2005. – № 6. – С. 34-36.
89. Cao Y, Chen W. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and ischemic stroke risk: a meta-analysis in Chinese population / Y Cao, W.Chen // *Int J Neurosci.* – 2014. No 21. – P. 56-61.
90. Anil Sapru 4G/5G Polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor -1 Gene Is Associated with Mortality in Intensive Care Unit // *Anesthesiology* 2009; 110:1086–91
91. Maurizio Cesari Determinants of Plasma Levels of Plasminogen Activator Inhibitor-1 : A Study of Normotensive Twins // *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:316-320
92. Slavik L. Molecular pathophysiology of thrombotic states and their impact to laboratory diagnostics / L. Slavik, V. Krcova, A. Hlusi // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2009. - № 153. – С. 19-25.
93. Schoenhard J. A. Male-female differences in the genetic regulation of t-PA and PAI-1 levels in a Ghanaian population / J. A. Schoenhard, F. W. Asselbergs, K. A. Poku // *Hum Genet.* – 2008. - № 124. – С.10.1007.
94. Margaglione, M., Cappucci, G., Colaizzo, D., Giuliani, N., Vecchione, G., Grandone, E., Pennelli, O., Di Minno, G. The PAI-1 gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease. *Arterioscler // Thromb. Vasc. Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 152-156.
95. Hermans, P. W. M., Hibberd, M. L., Booy, R., Daramola, O., Hazelzet, J. A., de Groot, R., Levin, M., Meningococcal Research Group. 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. // *Lancet.* – 1999. – Vol. 354. – P. 556-560.
96. Balta G, Altay C, Gurgey A. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs. // *Am J Hematol.* – 2002. – Vol. 71(2). – P. 89-93.

97. Krisztina Madach R4eGsea/rc5hG polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study // *Critical Care*. – 2010. – Vol. 14. – P. 79-84.

98. Shaghaghi Z, Bonyadi M1, Somi MH. Association of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism with inflammatory bowel disease in Iranian Azeri Turkish patients / Z Shaghaghi, M Bonyadi, MH.Somi // *Saudi J Gastroenterol.*- 2014. - Jan-Feb. – No 20(1). – P.54-58.

99. Incalcaterra E, Meli F, Muratori I et al. Residual vein thrombosis and onset of post-thrombotic syndrome: influence of the 4G/5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 gene / E Incalcaterra, F Meli, I Muratori et al. // *Thromb Res.* – 2014. – No. 133(3). - P. 371-374.

100. Madách K. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study / K. Madách, I. Aladzcity, A. Szilágyi [та ит.] // *Crit Care*. – 2010. - № 14. – P. 1180-1186.

101. Kharitonov S.A. Exhaled markers of pulmonary disease / S.A. Kharitonov, P.J. Barnes // *Am.J. Respir.Crit.Care Med.* – 2001. – Vol.163. – P.1693 – 1722.

102. Westendorp, R. G. J., Hottenga, J.-J., Slagboom, P. E. Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. // *Lancet*. – 1999. - Vol. 354. – P. 561-563.

103. Yamada, N., Arinami, T., Yamakawa-Kobayashi, K., Watanabe, H., Sohda, S., Hamada, H., Kubo, T., Hamaguchi, H. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with severe preeclampsia. // *J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 45. – P. 138-141.

104. Evanthia Diamanti-Kandarakis The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma PAI-1 levels // *European Journal of Endocrinology*. - 2004. – Vol. 150. – P. 793–798.

105. Janusz Blasiak Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is not associated with breast cancer // *Acta Biochimica Polonia.* – 2000. - Vol. 47. - No. 1. – P. 191-199.

106. Aĭsina RB, Mukhametova LI, Ostriakova EV et al. Polymorphism of the plasminogen activator inhibitor type 1 gene, plasminogen level and thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome / RB Aĭsina, LI Mukhametova, EV Ostriakova et al. // *Biomed Khim.* – 2014.- Jan-Feb. – No 60(1). –P. 72-93.

107. Russo PD, Damante G. Thrombophilic Mutations as Risk Factor for Retinal Vein Occlusion: A Case-Control Study / PD Russo, G/ Damante// *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2014. - Feb. - No 25. – P. 30-34.

108. Pietropolli A, Giuliani E, Bruno V. Plasminogen activator inhibitor-1, factor V, factor II and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in women with recurrent miscarriage/ A Pietropolli, E Giuliani, V Bruno // *J Obstet Gynaecol.*- 2014. –No 34(3). – P. 229-234.

109. Lee YH, Song GG. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G and the MTHFR 677C/T polymorphisms and susceptibility to polycystic ovary syndrome: a meta-analysis / YH Lee, GG Song // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*- 2014. –No. 175. – P. 8-14.

110. Li X. X. Idiopathic pulmonary fibrosis in relation to gene polymorphisms of transforming growth factor- β 1 and plasminogen activator inhibitor 1 / X. X. Li, N. Li, C. J. Ban [та ін.] // *Chin Med J (Engl).* – 2011. - № 5. – C.1923-7

111. Yoon, S., Tromp, G., Vongpunsawad, S., Ronkainen, A., Juvonen, T., Kuivaniemi, H. Genetic analysis of MMP3, and PAI-1 in Finnish patients with abdominal aortic or intracranial aneurysms. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 265. – P. 563-568.

112. Oszajca K, Wroński K, Janiszewska G. The study of t-PA, u-PA and PAI-1 genes polymorphisms in patients with abdominal aortic aneurysm / K Oszajca, K Wroński, G Janiszewska // *Mol Biol Rep.*- 2014. –No. 41. – P. 2859-2864.

113. Kowal K Analysis of -675 4G/5G SERPINE1 and C-159T CD14 Polymorphisms in House Dust Mite-Allergic Asthma Patients // *J Investig Allergol Clin Immunol.* - 2008. - Vol. 18.- P. 284-292

114. Sans M. The 4G/4G genotype of the 4G/5G polymorphism of the type-1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) gene is a determinant of penetrating behaviour in patients with Crohn's disease // *Aliment Pharmacol Ther.* - 2003. – No. 17. – P. 1039–1047.

115. Markus Nauck Rapid, Homogeneous Genotyping of the 4G/5G Polymorphism in the Promoter Region of the PAI1 Gene by Fluorescence Resonance Energy Transfer and Probe Melting Curves // *Clinical Chemistry.* – 1997. – No. 45. – P. 1141 – 1147

116. Sartori MT, Vettor R, De Pergola G, De Mitrio V, Saggiorato G, Della Mea P, Patrassi GM, Lombardi AM, Fabris R, Girolami A. Role of the 4G/5G polymorphism of PaI-1 gene promoter on PaI-1 levels in obese patients: influence of fat distribution and insulin-resistance // *Thromb Haemost.* – 2001. – No. 86. – P. 1161-1169.

117. William P. Fay Human Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Deficiency: Characterization of a Large Kindred With a Null Mutation in the PAI-1 Gene // *Blood.* – 1997. – Vol. 90. – P. 204-208

118. Sogutlu Sari E, Yazici A, Eser B The prevalence of 4G/5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene in central serous chorioretinopathy and its association with plasma PAI-1 levels / Sari E Sogutlu, A Yazici, B Eser // *Cutan Ocul Toxicol.*- 2014. - No. 22. – P. 45-50.

119. Nie W. The -675 4G/5G polymorphism in plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with risk of asthma: a meta-analysis / W. Nie, B. Li, Q. Y. Xiu // *PLoS One.* – 2012.- Vol. 73 – P. 1318-1371.

120. Dijkstra A. SERPINE1 -675 4G/5G polymorphism is associated with asthma severity and inhaled corticosteroid response / A. Dijkstra, D. S. Postma, M. Bruinenberg [та ін.] // *Eur Respir J.* – 2011. - Vol. 17. - P. 1036-1043.

121. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги.

Туберкулез : Наказ МЛЗ №1091 від 21.12.2012 // Збірник нормативно-директивних документів з охорони здоров'я. — 2012. —167 с.

122. Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції: Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002) // Збірник нормативно_директивних документів з охорони здоров'я. — 2002. — № 2. — С. 63–111.

123. Про затвердження інструкцій щодо надання допомоги хворим на туберкулез і неспецифічні захворювання легенів : Наказ МОЗ України № 499 від 28.10.2003 // Збірник нормативно-директивних документів з охорони здоров'я. — 2003. — № 2. - С. 63–111.

124. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., Кузник Б.И., Лакин К.П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск. Из-во Томского университета. 1980. 314 с.

125. Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. Проблемы гематологии и переливания крови, 1996, № 3, с. 5-15

126. Баркаган З.С. Общие принципы исследования системы гемостаза и анализ новых методов выявления внутрисосудистого свертывания крови //Терапевтический архив. – 1989. – №5. – С. 104-110.

127. Долгов В.В., Свиринов П.В.. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М., 2005.

128. Мельник А. А. Скрининговые методы исследования системы гемостаза / А. А. Мельник // Лабораторная диагностика 2. – 2002. – С.40-45.

129. Владимиров С. Г. Влияние активаторов, применяемых в тесте АЧТВ, на его результаты в пробирочном и аппаратном исполнении / С. Г. Владимиров, Л. Н. Тарасова, Е. Ю. Савиных [та ін.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. - № 2. – С.38-40.

130. Суховий М. В. Комплексная лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза при гипокоагуляционном синдроме / М. В. Суховий, В. А. Деев, В. П. Вознюк [та ін.] // Лабораторная диагностика 2. – 2002. – С.8-10.

131. Мамаев А. Н. Преаналитический этап исследования системы гемостаза / А. Н. Мамаев, А. Ж. Гильманов, Т. В. Вавилова [та ін.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. - № 4. – С.35-38.
132. Летаген Ф. Гемостаз и геморрагические заболевания. М. 2004.
133. Момот А.П., Елыкомов В.А., Баркаган З.С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста // Клиническая лабораторная диагностика – 1996. – №4. – С.17-20, . Полезные факты о коагуляции. Под ред. Ф. Хоффман-Ля Рош. – 1999.
134. Момот А.П., Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики нарушений гемостаза. М. 2005.
135. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочное пособие / А.М. Горячковский. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
136. Момот А. П. Принципы, методы и средства лабораторной диагностики патологии гемостаза на современном этапе / А. П. Момот // Лабораторная диагностика 2. – 2004. – С.52-70.
137. Тютрин И. И. Применение нового метода исследования функционального состояния системы гемостаза в клинической практике // И. И. Тютрин, О. А. Тарабрин, А. И. Стеценко [та ін.] // Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаяєва. – 2010. - № 4. – С.156-160.
138. Тютрин И. И. Низкочастотная пьезотромбоэластография – экспресс-метод оценки функционального состояния системы гемостаза / И. И. Тютрин, В. В. Удут, В. Ф. Клеменкова [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2012. - № 1 (19). – С.61-64.
139. Демтредер В.А. Лазерная корреляционная спектроскопия; Основные принципы и техника эксперимента / В.А. Демтредер - М.:Наука, 1985.- 609с.
140. Бажора Ю.И. Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / Ю.И. Бажора, Л.А. Носкин - Одесса: «Друк», 2002.- 400 С.
141. Классификация результатов исследования плазмы крови с помощью лазерной корреляционной спектроскопии на основе семиотики

предклинических и клинических состояний / К.С. Терновой, Г.Н. Крыжановский, Ю.И. Музычук [и др.] // Укр. биохим. жур. – 1998. - № 2.- С. 53-65.

142. Лазерна кореляційна спектроскопія компонентів сироватки крові та продуктів реакції антиген-антитіло *in vitro* / Ю.І. Бажора, Ю.В. Петрашевич, І.А. Міхова [та ін] // Одеський медичний журнал.- 2002. - №3. - С.8-11.

143. Анаев Э.Х. Конденсат выдыхаемого воздуха в диагностике и оценке эффективности лечения болезней органов дыхания / Э.Х. Анаев, А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 2006. - №4. – С.12 – 20.

144. Использование цитогенетического метода исследования буккального эпителия и метода лазерной корреляционной спектрометрии для мониторинга нарушений в организме детей / А.В.Алещенко, И.Б.Алчинова, О.С.Дмитриева [и др.] // Цитология. - 2006.- Т.48, №2.- С.169 – 172.

145. Комлевий О.М. Добові зміни конденсату вологи видихуваного повітря в юнаків та дівчат отримані за допомогою методу лазерної кореляційної спектроскопії // О.М. Комлевий, М.М. Чеснокова / Буковинський медичний вісник.- 2006. - №4.- С.74-76.

146. Стречень С.Б. Дифференциально-диагностические возможности лазерно-корреляционной спектрометрии сыворотки крови в оценке тяжести течения заболевания и его фармакотерапии / С.Б. Стречень, О.Л. Тымчишин // Вінницький національний медичний університет.- 2009. - [Електроний ресурс] - Режим доступу до документа: <http://vnmu.vn.ua>

147. Чернявський В.Г. Лазерно-кореляційна спектроскопія як новий метод в оцінці ефективності лікувально-реабілітаційних заходів у хворих на хронічні обструктивні захворювання легенів / В.Г. Чернявський // Буковинський медичний вісник - 2007.- Т. 11, №3. – С.21-24.

148. Романчук А.П. Результаты применения метода лазерной корреляционной спектроскопии в спорте. Теория и практика физической культуры - [Електроний ресурс].- Режим доступу до документа : <http://lib.sportedu.ru/Press/ТРФК/2002N1/p35-37.htm>

149. Доклиническая диагностика гомеостатического дисбаланса у работников плутониевого производства / Р.М. Тахауов, Ю.В. Семенова, А.Б. Карпов [и др.] // Сибирский медицинский журнал – 2003.- № 5.- С.90-95.

150. Бажора Ю.І. Механізми макромолекулярних взаємодій у системному гомеостазі при формуванні первинної імунної відповіді в експерименті / Ю.І. Бажора, Ю.В. Петрашевич // Буковинський медичний вісник.-2001.-Т.5, №3. - С. 162-165.

151. Петров С.Р. Возможности лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) плазмы крови в диагностике хирургических заболеваний щитовидной железы / С.Р. Петров, А.И. Кравченко // Вісник морської медицини. - 2001.- №1.- С.21-23.

152. Евчев Ф.Д. Сравнительная оценка активности интоксикационных процессов в сыворотке крови у больных раком гортани и с рецидивом рака гортани с помощью биохимических показателей и лазерной корреляционной спектроскопии / Ф.Д. Евчев, В.И. Кресюн // Журнал ушных, носовых и горловых болезней.- 2007. - №5.- С.60-68.

153. Юшковская О.Г. Лазерная корреляционная спектроскопия ротглоточных смывов как интегральный метод оценки эффективности реабилитации больных ишемической болезнью сердца / О.Г. Юшковская // Спорт.медицина.- 2006. - №1. - С.141–148.

154. Хижняк Е.В. Оценка риска развития осложнений у больных с острым инфарктом миокарда на основании исследования субфракционного состава сыворотки крови посредством лазерной корреляционной спектроскопии в сравнении с определением уровня тропонина I / Е.В. Хижняк // Медицина неотложных состояний. – 2008.- №4. – С.124-127.

155. Использование лазерной корреляционной спектроскопии в качестве экспертной системы оценки эффективности проводимой терапии при заболеваниях почек у детей / Н.А. Лисовая, Л.А. Носкин, А.В. Папаян [и др.] // Нефрология и диализ.- 2001.- Т.3, №1. – С.12-15.

156. Іванько О.В. Диференційна діагностика набрякової та деструктивних форм гострого панкреатиту з використанням лазерно кореляційно спектроскопії- дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.03 – хірургія. ОДМУ, Одеса, 2004.

157. Филюк В.В. Дифференциальная диагностика туберкулезных и карциноматозных плевритов с помощью лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) плазмы крови / В.В. Филюк, Нгуен Ван Хань // Укр. пульмонолог. журн. - 2000. - № 3. - С. 16—18.

158. Сазонец О.И. Исследование различных биологических жидкостей методом лазерной корреляционной спектроскопии у больных бронхиальной астмой / О.И. Сазонец, И.В. Бируля, Л.А. Хоровская // Клиническая и лабораторная диагностика. - 1997. - №5. - С.84.

159. Определение уровня функциональной достаточности бронхоальвеолярной системы на основе биофизического исследования конденсата влаги выдыхаемого воздуха / Ю.И. Бажора, Л.А. Носкин, М.Ю. Карганов и др. // Актуальні питання медичної реабілітації дітей та підлітків: дсеукраїнська наукова коференція, 2005р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2005.- С.66.

160. Зубаренко А.В. Лазерная корреляционная спектроскопия в диагностике плазменного гомеостаза при остром воспалении / А.В. Зубаренко, Ю.И. Бажора // Медицинская Реабилитация Курортология Физиотерапия - 1998. - №3. - С.49-50.

161. Рузанова Е. В. Нарушение кальций-фосфорного метаболизма и его коррекция у детей с рецидивирующим бронхитом / Е. В. Рузанова // Одеський медичний журнал – 2009. - №1. – С.32-35.

162. Артапетян А.Б. Полимеразная цепная реакция. // Молекулярная биология (1991) 25:4, 926-936.

163. Иллариошкин С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование.- М.: Медицинское информационное агентство,2004. – 207 с.:ил.

164. Кэрри Б. Моллис. Необычная история о том, как родилась полимеразная цепная реакция // В мире науки (1990) № 6, 26-34.
165. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине./ Под.ред Бажора Ю.И., В.И. Кресюн, В.Н. Запорожан – К.: Здоровья, 1996. – 207 с.
166. Панченко Е.П., Добровольский А.Б. Тромбозы в кардиологии. М.,1999.
167. Шуть И.В. Полимеразная цепная реакция как метод выделения ДНК/ И.В. Шуть, Н.А. Кравченко Н.А. // Труды фундаментальной и прикладной генетики. – 2003. – Вып. 2. – 300 с.
168. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва – М. : Медиасфера, 2003. – 312 с.
169. Мачабели М.С., Кузник Б.И., Скипетров В.П., Патеюк В.Г. и др. Тромбогеморрагический синдром. Тбилиси. Из-во Сабчота-Сакартвелло». 1988. 150 с.
- 170.Окороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов. – М.: Медицинская литература, 2003. – Т. 7. – С. 25-28.
171. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных препаратов при лечении туберкулеза / Фещенко Ю.И., Черенько С.А., Мальцев В.И. [и др.] // Укр. мед. часопис. – 2008. – Т. 65, – № 3. – С. 117–125.
172. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. 1993.
173. Хворостухина Н. Ф. Показатели эндогенной интоксикации и системы гемостаза у беременных с аппендицитом / Н. Ф. Хворостухина, У. В. Столярова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Том 6. - № 2. – С. 5-10.
174. Корж Е. В. Роль системы гемостаза в формировании деструкции при туберкулезе легких / Е. В. Корж, Л. Н. Родимова, Е. В. Дмитриенко [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2006. - № 2. – С.70-72.

175. Медикаментозна резистентність мікобактерій туберкульозу в Одеській області України та фактори ризику розповсюдження резистентності туберкульозу: дані проспективного дворічного дослідження / О.К.Асмолов, В.В. Ніколаєвський, В.Й. Кресюн [та ін.] // Укр. Пульмонолог. журн. – 2005. - №2. – С.39-43.
176. Медников Б.Л. Лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* // Б.Л.Медников // Пульмонология. – 2005. - №2. – С.5-8.
177. Калабуха І. А. Особливості вихідного стану гемостазу у хворих, які потребують хірургічного лікування з приводу захворювань легенів / І. А. Калабуха // Лікарська справа. – 1999. - № 4. – С. 75-77.
178. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулутко Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М., - 2001. – 330 с.
179. Перельман М. И. Фтизиатрия / М.И. Перельман // Москва: «Медицина» – 2004. – 536 с.
180. Бажора Ю. И. Лазерная корреляционная спектроскопия в диагностике плазменного гемостаза при остром воспалении / Ю. И. Бажора, А. В. Зубаренко, Д. Ю. Андронов [та ін.] // Медицинская реабилитация, курортология, физиотерапия. – 1998. - № 3. – С. 49-50.
- 181.Юрковский О.И. Общеклинические анализы в практике врача // О.И. Юрковский , А.М. Грицюк // М.: Центр ХГС, 2000. – 112 с.
- 182.Weber W. Wendell. Pharmacogenetics / Wendell W. Weber. – Oxford University Press, 2008. – 434 p.
- 183.Billington O.J. Physiological cost of rifampin induced in vitro in *Mycobacterium tuberculosis* / O.J. Billington, T.D. McHugh, S.H. Gillespie // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 1999.- V.43. – P.1866-1869.
- 184.Влияние лекарственной устойчивости на фитнес микобактерий туберкулеза генотипа W-Beijing / О.С. Тунгусова, А.О. Марьяндышев, Д.А. Каугант [и др.] // Проблемы туберк. и болезней легких – 2005. - № 10. – С. 46–50.

185. Fox S. I. Human physiology - 12th ed. / Stuart Ira Fox. – McGraw-Hill: NY, 2011. – 749 p.
186. Шиффман Ф. Дж. Патология крови / Ф. Дж. Шиффман. – М. – СПб. : «Издательство БИНОМ» - «Невский диалект», 2000. – 448 с.