

# Сравнительные данные о выявлении эффектов антикоагулянтов волчаночного типа с помощью ядов гадюки Расселла и гюрзы среднеазиатской

*Баркаган З.С., Сердюк Г.В., Цывкина Л.П., Момот А.П.*

## Comparative data of the revelation of lupous anticoagulant effects with Russell viper and Central Asian гюрза venoms

*Barkagan Z.S., Serdyuk G.V., Tsyvkina L.P., Momot A.P.*

Алтайский государственный медицинский университет,  
Федеральный академический центр, ЦНИЛ АлГМУ, г. Барнаул

© Баркаган З.С., Сердюк Г.В., Цывкина Л.П., Момот А.П.

Для идентификации эффектов волчаночных антикоагулянтов (ВА) используются тесты с фосфолипидзависимыми коагулазами змеиных ядов. За рубежом с этой целью применяют разведенный яд гадюки Расселла.

Исследования, проведенные авторами статьи на 31 пациенте (10 мужчин и 21 женщина) в возрасте от 25 до 51 года с документированным по клиническим и лабораторным критериям антифосфолипидным синдромом, показали, что с этой же целью может быть использован коагуляционный тест с разведенным ядом гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina turanica*), коагулаза которого по механизму действия близка к коагулазе яда гадюки Расселла (*Vipera Russellii*).

**Ключевые слова:** антифосфолипидный синдром, волчаночные антикоагулянты, разведенный яд гюрзы среднеазиатской, разведенный яд гадюки Расселла, бедная тромбоцитами плазма, антифосфолипидные антитела.

For identification of lupous anticoagulant (LA) effects tests with phospholipin-dependent **коагулазы (мн.число!)** of snake venoms are used. Abroad they use the diluted Russell viper venom for this purpose.

Investigations carried out by the authors on 31 patients (10 men and 21 women) aged 25-51 with antiphospholipin syndrome registered by clinical and laboratory criterions, have shown that the coagulation test with diluted Central Asian **гюрза** (*Vipera lebetina turanica*) venom could be used for the same purpose, its **коагулаза** by the action mechanism is close to the **коагулаза** of Russell viper venom (*Vipers Russellii*).

**Key words:** antiphospholipin syndrome, lupous anticoagulants, diluted Central Asian **гюрза** venom, diluted Russell viper venom, plasma meager by thrombocytes, antiphospholipin antibodies.

УДК 616.5-002.525.2:615.9

### Введение

В скрининге антифосфолипидного синдрома (АФС) важное место занимает выявление на бедной тромбоцитами плазме (БТП) бимодальных антител к фосфолипид-белковым комплексам АФА, обладающих свойствами волчаночных антикоагулянтов (ВА).

В виду гетерогенности АФА распознавание эффектов ВА базируется на обязательном выполнении группы скрининговых и подтверждающих тестов, основанных на способности ВА вызывать гипокоагуляцию в фосфолипидзависимых коагуляционных тестах [5—7, 10, 14].

Для выявления эффектов ВА в течение многих лет используется тест с ядом гадюки Расселла, коагулаза которого вызывает свертывание

## Экспериментальные и клинические исследования

крови, активируя в присутствии ионов кальция комплекс факторов X + V, причем эта активация реализуется на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах.

Яд гадюки Расселла является международным стандартом для определения антител, обладающих свойствами ВА [8, 9, 11—13]. Соответствующие диагностикумы с указанным ядом выпускаются серийно рядом зарубежных фирм.

В ранее проведенных нами исследованиях было показано, что яд гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina turanica*) обладает сходным с ядом гадюки Расселла (*Vipera Russelli*) действием на свертывающую систему крови и что этот эффект также зависит от активности фосфолипидных мембран и антител к ним в плазме крови [1, 4, 15].

Однако в связи с тем, что гадюка Расселла обитает лишь в тропических странах Южной и Юго-Восточной Азии и на территории стран СНГ не встречается, что делает этот реагент малодоступным большинству отечественных диагностических лабораторий, мы, руководствуясь сходством эффектов коагулаз ядов гадюки Расселла и гюрзы, сочли возможным испытать для скрининга эффектов ВА яд гюрзы среднеазиатской.

С этой целью нами проведено сопоставление результатов коагуляционных проб с разведенными токсинами гадюки Расселла и гюрзы среднеазиатской на группе больных с документированным по клиническим и лабораторным данным АФС.

### Материал и методы

Сравнительное изучение коагуляционных проб с разведенными ядами гадюки Расселла и гюрзы среднеазиатской проведено на образцах плазмы 31 пациента (10 мужчин и 21 женщина) в возрасте от 25 до 51 года с АФС. Средний возраст составил  $36,5 \pm 2,3$  года. В контрольную группу вошли 50 практически здоровых людей (30 женщин и 20 мужчин в возрасте от 22 до 45 лет, средний возраст которых составил  $35,0 \pm 3,6$  года) без АФА в плазме крови.

Все исследования проводили на оптическом коагулометре «Thrombotimer-4» фирмы «Behnk Elektronik», поскольку в ранее проведенном тестировании ядов нами была показана более высокая точность и воспроизводимость ядовитых тестов при коагулометрических определениях по сравнению с мануальными [2, 3].

Проверка нормальности распределений показателей проводилась во всех исследуемых группах. Для проверки нормальности распределений использовался критерий Колмагорова—Смирнова, реализованный в комплекте статистических программ Statistica. Исследуемые группы имели распределение Гаусса—Лапласа. Сравнение средних значений проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Реактивы:

- лиофильно высушенный яд гадюки Расселла «Sigma»;
- лиофильно высушенный яд гюрзы среднеазиатской (лебетокс);
- хлорид кальция, 0,277%-й раствор;
- БТП здорового человека;
- БТП больных с АФС.

Для приготовления маточных растворов ядов сухое вещество разводили в 1 мл дистиллированной воды (2 мг/мл). Маточный раствор оставляли на сутки при температуре 2—8 °С для стабилизации активности («созревания»). Из маточного раствора путем последовательных разведений дистиллированной водой готовили рабочий раствор лебетокса с конечной концентрацией от 0,02 до 0,002 мг/мл в зависимости от исходной гемокоагулирующей активности образца яда с тем, чтобы время свертывания в нормальной плазме при исследовании на коагулометре было в пределах 35—45 с. На контрольной плазме здоровых людей коагуляционная активность обоих ядов уравнивалась в каждом исследовании.

В две кюветы вносили по 0,1 мл БТП исследуемого. В одну из них добавляли 0,1 мл рабочего раствора яда гюрзы (лебетокса), а в другую — рабочего раствора яда гадюки Расселла. Смесь инкубировали в течение 60 с при температуре 37 °С, затем в каждую кювету вносили по 0,1 мл раствора хлорида кальция и регистрировали

время свертывания. Аналогичным образом исследовали БТП здоровых людей.

## Результаты исследования

Анализ сравнений результатов ядовитых тестов представлен в таблице.

**Сравнительное исследование по использованию разведенных ядов гадюки Расселла и гюрзы среднеазиатской**

Реагент	Время свертывания, с ( $X \pm m$ )		Удлинение времени свертывания, %
	Контрольная группа (n = 50)	Больные с ВА (n = 31)	
Яд гюрзы среднеазиатской	39,4 ± 0,5	61,4 ± 4,2 $p_{1-2} < 0,001^*$	55,8
Яд гадюки Расселла	40,5 ± 0,4	59,7 ± 3,7 $p_{1-2} < 0,001^*$	47,4
Достоверность различий $p$	> 0,5	> 0,5	—

\* Индексами обозначено время свертывания: 1 — в контрольной группе, 2 — у больных с ВА.

В сравнительных исследованиях, как видно из таблицы, была установлена полная идентичность показаний коагуляционных тестов, выполненных с разведенными ядами гадюки Расселла гюрзы среднеазиатской у больных с ВА в плазме крови.

## Заключение

Результаты проведенного исследования показали возможность использования коагуляционной пробы с разведенным ядом гюрзы среднеазиатской (*Vipera lebetina turanica*) в распознавании эффектов ВА.

## Литература

1. Баркаган З.С., Цыпкина Л.П., Мамаев А.Н., Цеймах И.Я. Анализ участия микромембран в гемокоагулирующих эффектах змеиных ядов // Актуальные проблемы герпетологии и токсинологии. Тольятти, 1995. Вып. 1. С. 15—21.
2. Цеймах И.Я. Совершенствование методов диагностики ряда важнейших тромбофилий: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Барнаул, 1997. 24 с.

3. Цеймах И.Я., Цыпкина Л.П., Федоров Д.В. О возможности применения коагулометров различных конструкций для исследования гемокоагулирующих свойств змеиных ядов // Актуальные вопросы службы крови и трансфузиологии. СПб., 1995. С. 204—205.
4. Цыпкина Л.П. Клинико-диагностическое значение герпетотоксинов в распознавании основных видов патологии системы гемостаза: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Барнаул, 1997. 36 с.
5. Arnout J. Antiphospholipid syndrome: diagnostic aspects of lupus anticoagulants / *Thromb. Haemost.* 2001. V. 6. P. 83—91.
6. Brandt J.T., Barna Z.K., Triplett D.A. Laboratory identification of lupus anticoagulants: Results of the Second international Workshop for identification of lupus anticoagulants / *Thromb. Haemost.* 1995. V. 74. < 6. P. 1597—1603.
7. Brandt J.T., Triplett D.A. et al. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update / *Thromb. Haemost.* 1995. V. 74 (4). P. 1185—1190.
8. Cappucci G., Grandone E., Guiliani N. et al. Use of a commercial PNP as confirmatory test for delute Russell's viper venom time (dRVVT) / *Thromb. Haemost.* 1997. Suppl. Abstr. P. 1332—1336.
9. Exner T., Papadopoulos G., Koufals J. Use of a simplified delute Russell's viper venom time (dRVVT) confirms heterogeneity among «lupus anticoagulants» // *Blood Coag. Fibrinol.* 1990. < 1. P. 259—266.
10. Exner T., Triplett D.A., Taberner D., Machen S.Y. Guidelines for testing and revised criteria for the lupus anticoagulants. SSC subcommittee of the standardization of Lupus Anticoagulants // *Thromb. Haemost.* 1991. V. 65. P. 320—325.
11. Exner T., Sochinsky C.L. Evaluation of the DVV test IDW confirm system of diagnosis of Lupus anticoagulants // *Thromb. Haemost.* 1993. V. 69. < 6. P. 1034.
12. Luddington R., Scales C., Baglin T. Snake venom based assays for detection of lupus anticoagulant // *Thromb. Haemost.* 1997. Suppl. PS. 1360. P. 332.
13. Thiagarajan P., Pengo V., Shapiro S.S. The use of the dilute Russell's viper venom time for the diagnosis of Lupus anticoagulants // *Blood.* 1986. V. 68. < 4. P. 869—874.
14. Triplett D.A. Coagulatoin Assay for the lupus anticoagulant: Review and critique of current methodology. *Stroke*, suppl. 1. 1992. V. 23. < 2. P. 11—14.
15. Tsyvkina L.P., Barkagan Z.S. The use of Levantine viper venom for the investigation of factor X and platelet factor 3 // *Toxicon.* 1978. V. 16. P. 675.

Поступила в редакцию 03.11.2003 г.