

фибриногена, протеинов С и S, АЧТВ, протромбинового времени, МНО, тромбинового времени.

Для определения уровней протеинов С и S, был использован коагуляционный метод. Референсные значения (показатель активности в %) – дети 5-9 лет – (62-130%); 9-17 лет (60-140%).

**Результаты и их обсуждение.** У всех обследованных уровень фибриногена был в пределах нормы. Укорочение АЧТВ ( $R < 0,8$ ) наблюдалось у 8 человек (22%), МНО  $< 0,85$  – у 9 человек (25%).

Снижение протеинов С и S ниже нормы не наблюдалось ни у одного из обследованных.

У 12 пациентов с кетоацидозом (33%) выявлено повышение уровня протеина С выше диапазона нормальных значений, что по данным литературы, самостоятельного патологического значения не имеет. Однако, у всех детей на фоне метаболического ацидоза и гипергликемии при повышении уровня протеина С отсутствовало увеличение уровня его кофактора – протеина S. Он находился в диапазоне минимальных нормальных значений.

**Выводы.** 1. У 33% обследованных детей с СД 1 типа в стадии декомпенсации (кетоацидоз) на фоне повышения уровня протеина С отсутствовало соответствующее увеличение протеина S.

2. Относительно низкое содержание протеина S (относительный дефицит) у данного контингента пациентов может быть обусловлен как снижением его выработки в результате нарушения функции печени на фоне кетоацидоза, так и может быть обусловлен генетически.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Fischbach, F. A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests / F. Fischbach, B. Marshall // Wolters Kluwer Health. – 2015. – P. 174-175.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ VII ЧЕЛОВЕКА ХРОМОГЕННЫМ МЕТОДОМ

**Жоров О.В., Кравчук З.И., Жилинская Р.Ф., Власов А.П.**

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий

**Актуальность.** В настоящее время в лабораторной диагностике и производстве лекарственных средств из плазмы крови человека широко применяются коагуляционные и хромогенные наборы реагентов для определения активности факторов свертывания крови человека. Согласно Государственной фармакопеи Республики Беларусь [1] хромогенный метод является основным для контроля качества лекарственных средств, содержащих фактор свертывания крови VII. Использование наборов с хромогенным субстратом позволяет определять активность фактора свертывания крови VII и назначать необходимую терапию пациентам.

**Цель.** Разработать набор реагентов для количественного определения активности фактора свертывания крови VII человека в плазме, продуктах крови и лекарственных средствах хромогенным методом.

**Методы исследования.** Объектами исследования являлись: фактор свертывания крови VII человека (FVII), фактор свертывания крови X человека (FX), плазма крови доноров, препарат протромбинового комплекса, тромбопластин собственного производства.

**Результаты и их обсуждение.** В основу определения активности FVII положен двустадийный фотометрический метод. На первой стадии фактор FVII в комплексе с тромбопластином и катионами кальция активируется и переходит в форму FVIIa, которая, в свою очередь, активирует фактор X (FX) и переводит его в активную форму FXa. На второй стадии FXa селективно расщепляет хромогенный субстрат *n*-нитроанилина. Исследование образца проводят при 405 нм.

Основной компонент набора реагентов – FX, был выделен и очищен из плазмы крови доноров анионообменной и гидрофобной хроматографией [2].

Определение активности фактора VII проводили, используя разработанный набор реагентов, следующим образом. Во флаконы, содержащие фактор X и тромбопластин, вносили по 2,0 мл очищенной воды. Во флакон, содержащий хромогенный субстрат, вносили по 4,0 мл очищенной воды. Калибровочные пробы готовят путем серийных разведений калибровочной пробы. Для определения фактора VII образцы плазмы необходимо развести в 1000 раз. Калибровочные пробы и разведенные образцы плазмы вносили в лунки микропланшета и инкубировали при 37 °С в течение 5 мин. Затем добавляли комбинированный реагент, содержащий тромбопластин, хлорид кальция и фактор X, и инкубировали при 37 °С в течение 10 минут. Затем во все лунки добавляли раствор хромогенного субстрата и инкубировали при 37 °С. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 20% уксусной кислоты. Измеряли оптическую плотность при длине волны 405 нм на планшетном спектрофотометре. Активность фактора свертывания крови VII в МЕ/мл определяли по калибровочной кривой.

**Выводы.** Разработан набор реагентов для количественного определения активности фактора свертывания крови VII человека с диапазоном измерений 0,01 – 1,5 МЕ/мл.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея Республики Беларусь (ГФ. РБ II). Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под. общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – 1220 с.
2. Husi, H. Purification of factor X by hydrophobic interaction chromatography/ H. Husi, Walkinshaw M. D.// Journal of Chromatography B – 2001.- № 755. – P. 367 –371.