

УДК 577.151.6:612.115

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЯВИ В КРОВотоЦІ БІЛКІВ-МАРКЕРІВ ГЕМОСТАТИЧНОГО ДИСБАЛАНСУ ОРГАНІЗМА

Савчук О.М.

Київський Національний Університет імені Тараса Шевченка

Надійшла до редакції 29.01.2010

Зроблена спроба кількісно та якісно охарактеризувати білки, які з'являються в кровотоці при різних патологіях системи гемостазу та можуть вказувати на виникнення дисбалансу гемостатичного каскаду. З використанням сучасних методів білкової хімії показано присутність в складі розчинних фібрин-мономерних комплексів білків з молекулярною масою від 330 кДа до 60 кДа. Співвідношення розчинних фібрин-мономерних комплексів та Д-димеру може бути показником ступеня порушення балансу між системою зсідання та фібринолізу.

**Ключові слова:** розчинні фібрин-мономерні комплекси, вестерн-блот аналіз.

### ВСТУП

Гемостатичний баланс можна розцінювати як рівновагу між двома протилежними процесами - згортанням крові та фібринолізом. Система зсідання крові являє собою каскад біохімічних реакцій, спрямованих на утворення фібринового згустку з його неактивного попередника фібриногену під дією ферменту тромбіну [1]. Основна біологічна функція фібриногену є його властивість під дією тромбіну переходити в активну форму мономерний фібрин. Подальша полімеризація та утворення трьохмірної сітки, яка є основою згустку, зумовлена особливостями структури цього білка [2]. Ферментативне розщеплення фібринового згустку призводить до накопичення в плазмі розчинних фрагментів, які виступають маркерами порушення системи гемостазу. Підвищений рівень цих продуктів супроводжує тромбоз глибоких вен, синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, травми, хірургічні втручання, інфекції, розвиток пухлин, серповидно-клітинну анемію [3]. Отже, рівень продуктів деградації фібриногену/фібрину під час терапії тромболітиками може свідчити про стан патологічного процесу та ефективність лікування. Тому розробка нових підходів до виявлення продуктів розщеплення фібриногену/фібрину (ПРФ) у плазмі крові людини має велике значення для лабораторної клінічної діагностики.

При патологічній надмірній активації фібринолізу у крові з'являються продукти розщеплення фібриногену: X, У, Д, Е-фрагменти, які самі по собі можуть ускладнити порушення, що виникло. Наприклад, суттєвою особливістю фрагменту Д є сильна інгібуюча дія на полімеризацію фібрину, яка виражається в затримці його згортання, а ранній

фрагмент Х зберігає властивість зсідатись з тромбіном і бере участь у побудові полімеру [4, 5].

Особливо важливим при порушенні гемостатичного балансу є виявлення фрагментів Д та ДД, які вважаються молекулярними маркерами патології системи гемостазу. За показником рівня ПРФ захворювання можна поділити на три групи. До перших ми відносимо захворювання, де домінує первинний фібриноліз, за якого в плазмі виявляється підвищений рівень Д-фрагменту (захворювання печінки, цироз). Існують захворювання, в яких переважає вторинний фібриноліз, тоді у плазмі переважно знаходиться ДД-фрагмент. Відомі патології, за яких вторинний та первинний фібриноліз збалансовані, тобто у кровотоці присутні, як Д фрагмент, так і Д-димер. До цієї групи відноситься, зокрема, ускладнення вагітності [6]. У цьому разі Д та ДД-фрагменти набувають важливого діагностичного значення.

У зв'язку з цим виявлення продуктів деградації фібриногену/фібрину у плазмі крові при різних патологіях є важливим, насамперед, для розуміння механізмів взаємозв'язку між функціонуванням ланок системи гемостазу в організмі і мають не тільки теоретичне, а й практичне значення.

Метою даної роботи було дослідження появи в кровотоці білків-маркерів виникнення дисбалансу гемостатичного каскаду, що накопичуються в плазмі крові при різних патологіях, пов'язаних з системою гемостазу.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В роботі використовували плазми хворих на гострий інфаркт міокарду (15 хворих), пацієнтів з важкими опіками (17 пацієнтів) та жінок, у яких була ускладнена вагітність (14 жінок). Схема експерименту

була наступною: зразки плазми крові осаджували різними методами, потім проводили електрофоретичне розділення отриманих осадів методом диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі з додаванням додецисульфату натрію. Після електрофоретичного розділення проводили метод вестерн-блотинг з використанням відповідних антитіл до досліджуваних білків та їх фрагментів. По завершенні процедури вестерн-блотингу отримані результати аналізувались за допомогою програми Обробку отриманих методом диск-електрофорезу електрофореграм проводили за допомогою програми ImageMaster TotalLab v.2.01 (Amersham Biosciences). Програма ImageMaster TotalLab v.2.01 враховує похибку методу та дозволяє отримувати статистично достовірні результати.

Імунізацію кролів проводили білковими препаратами (фрагменти фібриногену/фібрину, сироватковий альбумін людини 96-98% чистоти) підшкірно шістьма щепленнями. Для підвищення титру антитіл використовували повний адьювант Фрейда. Кров брали на 10 - 14 день після останнього щеплення. Всі процедури, пов'язані з імунізацією, проводили згідно стандартних методик [7].

Сироватку крові ссавців отримували з цільної крові. Для вилучення фібриногену та супутніх білків кров залишали при 37° С на 4 години та потім центрифугували при 2000 г протягом 40 хв [7].

З крові імунізованих тварин одержували сироватку, яку висолювали насиченим розчином сульфату амонію до кінцевої концентрації 45%. Висол центрифугували протягом 30 хвилин за 2000 об./хв на центрифугу РС-6, осад розчиняли у половині початкового об'єму 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,4 та діалізували. Для одержання фракції антитіл з висолу супернатанту було обрано метод хроматографії на протеїн А сефарозі. Протеїн А є білком здатним специфічно з високою афінністю зв'язувати імуноглобуліни класу G. Така властивість зробила його зручним і популярним лігандом одержання сумарних імуноглобулінів. Для очистки імуноглобулінової фракції віддіалізований осад наносили на протеїн А сефарозу. Колонку відмивали 10 об'ємами 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,4 та елюювали 100 мМ гліцин-НСІ буфером, рН 2,8. Фракції збирали по 1 мл та негайно нейтралізували 1 М розчином трису до рН 7,6. Фракції імуноглобулінів діалізували проти 0,05 М трис-НСІ буфера, рН 7,4 протягом ночі при температурі 4°С [8].

Фрагмент Д фібриногену одержували гідролізом фібриногену, який проводили при 37°С у 0,05 М трис-НСІ буфері рН 7,4, у присутності 0,001 М СаСІ<sub>2</sub>. Концентрація фібриногену – 14 мг/мл, активність плазміногену – 0,2 к.о./мл, стрептокінази - 50 од/мл. Гідроліз проводили протягом 6-8 годин. Реакцію зупиняли додаванням 6-аміногексанової кислоти до 0,2М і соєвого інгібітора трипсину (0,05М). Плазмін видаляли на лизин-сефарозі. Для виділення фрагментів використовували іонообмінну хроматографію на КМ-

сефадексі С-50. Матеріал наносили в 0,01 М фосфатному буфері рН 6,0. Швидкість нанесення та швидкість елюції складала 1,0 мл/см<sup>2</sup>/хв. Елюцію матеріалу, що зв'язався з колонкою, проводили в 0,1 М фосфатному буфері рН 7,4, 0,3 М NaCl. Зберігали при -20° С. [9].

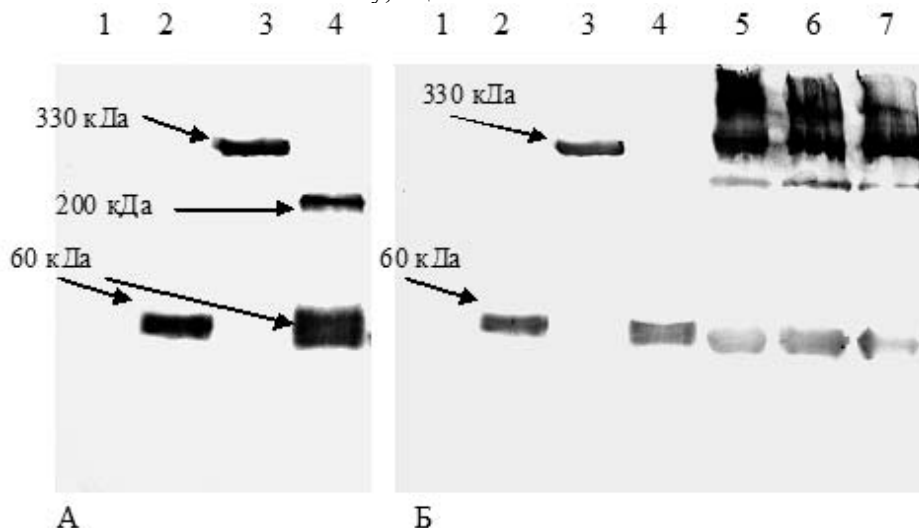
Фрагменти фібрину ДД та Е отримували гідролізом стабілізованого фібрину, який проводили плазміном. Тривалість гідролізу для отримання фрагменту Е<sub>1</sub> складала 4-5 годин, фрагменту Е<sub>3</sub> - 24 години за температури 20°С. Інгібування гідролізу проводили 5×10<sup>-5</sup> М ДФФ з наступним видаленням плазміну методом афінної хроматографії на лизин-сефарозі. Для отримання комплексу ДД-Е використовували іонообмінну хроматографію на КМ-Сефадексі. Матеріал наносили в 0,01 М фосфатному буфері рН 6,0. Швидкість нанесення та швидкість елюції складала 1,0 мл/см<sup>2</sup>/хв. Елюцію матеріалу, що зв'язався з колонкою, проводили в 0,1 М фосфатному буфері рН 7,4, 0,3 М NaCl [9].

Метод вестерн-блоту проводили відповідно до стандартного протоколу з деякими модифікаціями. Ідентифікацію білків в суміші проводили в кілька етапів: електрофорез за методом Лемлі у 10%-му поліакриламідному гелі, потім проводили перенесення білків з електрофорезного гелю на целюлозну плівку [10]. Для ідентифікації протромбіну та фрагментів фібрину використовували поліклональні антитіла кроля до цих білків.

Для більше якісної та докладної оцінки РФМК, які утворюються, були розроблені методичні прийоми по їх якісній та кількісній характеристиці в руслі крові. Для характеристики складу фракції РФМК використовували сучасний і досить інформативний імунохімічний метод вестерн-блоту. Була підібрана оптимальна концентрація поліакриламідного гелю, вміст білків в електрофоретичному зразку, концентрація первинних і вторинних антитіл, які використовуються для ідентифікації зразків. Метод вестерн-блоту був обраний тому, що використання тільки диск-електрофорезу в системі Лемлі не дозволяє ідентифікувати білки як фібриноген/фібрин або їх похідні. Це неможливо тому, що в плазмі крові присутні інші білки, молекулярна маса яких перебивається з молекулярною масою більшості фрагментів цих білків системи гемостазу. З огляду на це й те, що не можливо проводити більше якісну пробопідготовку по видаленню мінорних білків у зразках плазми крові для проведення їх електрофоретичного поділу й був використаний метод вестерн-блоту. Використання в цьому методу специфічних антитіл до певних білок та їх фрагментів системи гемостазу дозволяє вирішити поставлені перед нами завдання. Як маркерні білки ми використали електрофоретично чисті препарати фрагментів Е, ДД-Е, NDSK, ДД. Ці всі фрагменти були отримані та охарактеризовані з використанням сучасних методів білкової хімії.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З огляду на особливу важливість і значимість визначення розчинних фібрин-мономерних комплексів при виникненні дисбалансу в системі гемостазу, що приводить до гіперкоагуляції, була зроблена спроба більш докладно охарактеризувати процес появи розчинних фібрин-мономерних комплексів (РФМК) і проаналізувати їх склад при різних патологічних станах системи гемостазу, що



**Рис. 1.** Результати вестерн-блот аналізу фракцій РФМК плазм крові хворих на гострий інфаркт міокарду, яким в якості тромболітичного агента вводили стрептокінази (А – використано поліклональні антитіла проти фібриногену, Б – використано поліклональні антитіла проти Е-фрагменту фібриногену):

- сироватковий альбумін людини (негативний контроль);
- фрагмент фібриногену NDSK (60 кДа);
- фібриноген (330 кДа);
- ДД-Е комплекс (ДД- 200 кДа, Е – 60 кДа);
- 5-7 – фракції РФМК

Фракції РФМК одержували із плазм крові пацієнтів на 1 добу після введення стрептокінази в русло крові.

Як первинні антитіла використовували поліклональні антитіла проти фібриногену та Е-фрагмента фібриногену людини, які були очищені й охарактеризовані з використанням відповідних аффінохроматографічних носіїв.

Результати вестерн-блоту, що приведено на рисунку 1 є підсумковими, тому що попередньо проведенні аналізи дозволили оцінити склад фракції РФМК в плазмах крові. На цьому блоті ідентифікація проводилась тільки за допомогою антитіл проти Е-фрагменту, тоді як візуалізація результатів блот-аналізу за допомогою антитіл проти фібриногену приводиться в якості контролю. Це пов'язане з особливим інтересом до Е-фрагменту фібриногену/фібрину, присутність якого в плазмах крові, особливо в значних кількостях, дозволяє робити певні припущення про його участь у ряді біохімічних процесів в організмі, які можуть бути пов'язані не тільки з функціонуванням системи гемостазу. Існуючі літературні дані свідчать на користь того факту, що Е-

носять як первинний характер (стосовно патології в організмі), так і вторинний.

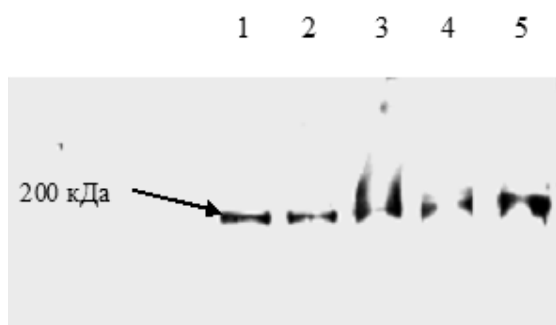
Отриманні результати проведення вестерн-блоту фракцій РФМК із плазм крові при різних патологіях організму представлені на рисунках 1 - 3.

На рисунку 1 представлені результати аналізу фракції РФМК у плазмі крові в пацієнтів з гострим інфарктом міокарда, яким у якості тромболітичного агента використали препарат стрептокінази.

фрагмент може бути присутнім у кровотоці, так і те, що він задіяний у багатьох біохімічних процесах [11-14]. Ідентифікація Е-фрагмента фібриногену/фібрину методом диск-електрофорезу в ПААГ з ДСН неможлива через присутність у зразках сироваткового альбуміну, молекулярна маса якого близька до молекулярної маси Е-фрагмента. Використання специфічних до Е-фрагменту поліклональних антитіл дозволило стверджувати, що білкова смуга в районі 70-60 кДа відповідає саме Е-фрагменту фібриногену/фібрину. Також показана присутність ДД-фрагменту фібрину та значних кількостей РФМК із молекулярною масою від 300 кДа та вище.

З огляду на особливу увагу до виявлення ДД-фрагменту фібрину у світовій клінічній практиці, як до маркера порушення системи гемостазу, було важливо точно підтвердити його наявність у плазмах крові, які піддавалися аналізу (Рисунки 2).

Для цього використовували моноклональні антитіла до ДД-фрагменту фібрину людини й провели аналіз тих же зразків фракцій РФМК, які досліджувались в попередніх дослідженнях.



**Рис. 2.** Результати вестерн-блот аналізу фракцій РФМК в плазмах крові хворих з гострим інфарктом міокарду (Використовували моноклональні антитіла проти ДД-фрагменту фібрину).

- 1 – ДД-фрагмент фібрину  
2,3 – фракції, отриманні при осадженні етанолом  
4,5 – фракції, отриманні при осадженні фосфатом

Як видно з представлених даних, в всіх зразках було виявлено присутність ДД-фрагменту фібрину.

Визначення співвідношення РФМК і ДД-фрагмента фібрину в зразках РФМК може дати інформацію про ступінь порушень рівноваги між активацією систем зсідання крові та фібринолізу.

Наявність смуги з молекулярною масою в районі 300-330 кДа на отриманих вестерн-блотах може свідчити про співосадження нативного фібриногену з РФМК даними методами одержання фракції РФМК.

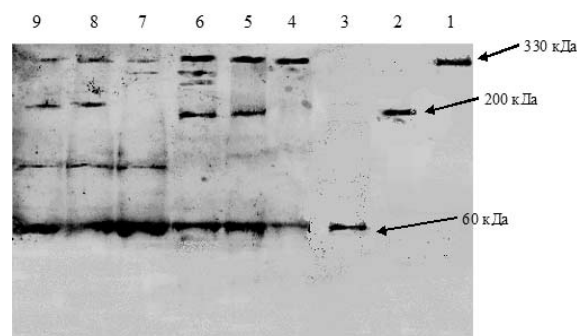
Отримані результати дозволяють припустити, що в результаті реакції паракоагуляції розчинні фібрин-мономерні комплекси осаджуються в комплексі з нативним фібриногеном і фрагментами фібриногену/фібрину.

Також була зроблена спроба проаналізувати якісний і кількісний склад РФМК, які присутні в плазмі крові пацієнтів, порушення в системі гемостазу у яких є вторинними по відношенню до головного патологічного процесу в організмі (рис. 3).

На рисунку 3. представлена типова блотограма фракцій РФМК, аналіз якої проводили за допомогою програми ImageMaster TotalLab v. 2.01 (таблиця).

Виявлено наявність 4 основних і декількох мінорних смуг залежно від зразка, що досліджувався. Електрофоретичний аналіз фракцій РФМК показав наявність у складі комплексів білкових компонентів з молекулярною масою 330 кДа, 270-240 кДа, 195 кДа, 100 кДа й 60 кДа, що дало можливість припустити наявність комплексів фібрину-мономеру із фрагментами фібриногену/фібрину (Х, ДД, Д, Е) (таблиця). Використання специфічних антитіл до

фрагментів фібриногену/фібрину при проведенні вестерн-блота даних зразків фракцій РФМК дозволив підтвердити, що у фракцію РФМК входять комплекси фібрину із фрагментами ДД, Д та Е.



**Рис. 3.** Результати вестерн-блот аналізу фракцій РФМК із плазм крові пацієнтів з різними патологіями, пов'язаними із системою гемостазу:

- 1-3 - маркери (1 - фібриноген; 2 - ДД-фрагмент фібрину; 3 - Е-фрагмент фібрину);  
4,7 - фракції РФМК із плазми пацієнтів з гострим інфарктом міокарду, осадженні етанолом і фосфатом, відповідно;  
5,8 - фракції РФМК із плазми крові пацієнтів з важкими опіками, аналогічно;  
6,9 - фракції РФМК із плазми крові жінок після операції кесарів розтин, аналогічно.

Порівняння складу фракцій РФМК, осаджених фосфатними буферами та етанолом, показало, що при осадженні етаноловим методом відбувається значне співосадження фібриногену (від 23 до 52%), що не входить до складу фібрин-мономерних комплексів і дає похибку при визначенні вмісту РФМК у плазмі крові. При осадженні фосфатними буферами ми спостерігаємо співосадження фібриногену в межах 3-11%, що майже не впливає на показники вмісту РФМК у плазмі крові. Таким чином, представлені дані свідчать про те, що фосфатний метод кількісного визначення РФМК є простим, точним, інформативним і має перевагу в порівнянні з іншими тестами, принцип яких заснований на реакціях паракоагуляції.

Аналіз отриманих експериментальних даних дозволяє зробити висновок про неоднорідність фракції РФМК у плазмі крові, що в її склад входять не тільки олігомерні структури (що свідчать про гіперактивацію системи згортання крові), але також фрагменти ферментативного розщеплення фібрину фібринолітичною системою.

**Таблиця**

Аналіз фракцій РФМК на вміст окремих білкових компонентів (окремі зразки відповідно до рисунку 3).

	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9
Ф, 330 кДа	52 %	24 %	23 %	3 %	9 %	11 %
Х, 270 кДа	–	–	10 %	2 %	–	–
Х, 240 кДа	–	–	5 %	–	–	–
ДД, 195 кДа	–	20 %	16 %	–	10 %	11 %
Д, 100 кДа	–	–	–	19 %	21 %	12 %
Е, 60 кДа	48 %	56 %	46 %	76 %	60 %	66 %

Ф - фібрин; Х - Х фрагмент; ДД - Д-димер; Д - Д фрагмент; Е - Е-фрагмент

Беручи до уваги дані факт, можна стверджувати, що вивчення якісного складу фракції РФМК (паралельно з визначенням вмісту розчинних фібрин-мономерних комплексів в плазмі крові хворих) дозволить визначити ступінь дисбалансу в системі гемостазу, що досить важлива, як при оцінці стану системи гемостазу, так і при контролі за проведенням відповідної терапії в умовах клінічного стаціонару.

Отримана інформація має певне практичне значення у зв'язку з тим, що при деяких патологіях вміст продуктів деградації фібриногену/фібрину значно підвищується. Відомо, що будь-яке запалення супроводжується активацією ферментних систем протеолізу, що може бути важливою складовою патогенезу ряду захворювань. Порушення рівноваги між системами зсідання крові й фібринолізу є характерною ознакою будь-якого патологічного процесу. Поява в кровотоці значної кількості ПРФ, особливо суміші Д- і ДД-фрагментів, може сприяти геморагічним ускладненням. У зв'язку із цим необхідна інформативна лабораторна діагностика стану системи гемостазу під час проведення тромболітичної терапії та патологіях, які пов'язані з підвищенням концентрації фібриногену та порушеннями балансу між системами зсідання крові й фібринолізу.

Біологічна роль похідних фібриногену/фібрину не обмежується інгібуванням полімеризації фібрину. Вони досить ефективно впливають на процес активації компонентів системи фібринолізу. Показано, що один із продуктів ферментативного розщеплення фібриногену, а саме Е-фрагмент, при взаємодії з Глуплазміногеном індукує в останньому формування активного центра. У зв'язку із цим дослідження впливу фрагментів фібриногену/фібрину на процеси гемокоагуляції й фібринолізу є важливими, насамперед, для розуміння механізмів взаємозв'язку між функціонуванням цих ланок системи гемостазу в організмі й мають не тільки теоретичне, а й практичне значення. Інформація про механізми регулювання системи гемостазу є дуже актуальною для медичної практики, особливо, для знаходження нових методів лікування захворювань, пов'язаних з надмірним тромбоутворенням.

## ВИСНОВКИ

Проаналізовано склад розчинних фібрин-мономерних комплексів при різних патологічних станах організму. Показано можливість появи в кровотоці значної кількості фрагменту Е фібриногену/фібрину. Беручи до уваги той факт, що до складу розчинних фібрин-мономерних комплексів, які утворюються в кровотоці за різних патологічних станів організму, входять фрагменти різної молекулярної маси, можна стверджувати про виникнення нових, нефізіологічних білок-білкових

взаємодій між цими фрагментами фібриногену/фібрину та білками кровотоку.

## Литература

1. Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н. Современные представления о системе гемостаза. – К.: Наукова думка, 2005. – 295 с.
2. Белицер В.А. Домены – крупные, функционально важные блоки молекул фибриногена и фибрина // Биохимия животных и человека. - 1982. - №6. –С. 38–56.
3. Barthels M. Diagnostic of blood coagulation. // Hamostaseologie. – 2008. – Vol.28, N 5. – P.320-334.
4. Kawasaki T., Shinoki N., Iwamoto S. Diagnostic value of plasma thrombin-antithrombin III complex and D-Dimer concentration in patients with varicose veins for exclusion of deep-vein thrombosis // Thromb. Res. 1998.– Vol.91, N2.– P.101-104.
5. Платонова Т.Н., Мусьялковская А.А., Толстых В.М., Белицер В.А. Торможение сборки фибрина фрагментом Д, полученным из фибриногена, и его димером из стабилизированного фибрина. Подтверждение двухфазности эффекта торможения // Биохимия -1980.– Т45. – N.10. – С. 1780-1787.
6. Tan M., van Rooden C.J., Westerbeeek R.E., Huisman M.V. Diagnostic management of clinically suspected acute deep vein thrombosis.// Br. J. Haematol. – 2009. – Vol. 146, N4. – P.347-360.
7. Harlow Ed, Lane D. Antibodies // Cold Spring Harbor Laboratory. - New York. - 1988. - P. 623-634.
8. Ey P.L., Prowse S.J., Jenkin C.R. Isolation of pure IgG1, IgG2a and IgG2b immunoglobulins from mouse serum using protein A-sepharose // Immunochemistry. - 1978. - Vol. 15, №17. - P.429-436.
9. Белицер В.А., Варецкая Т.В., Цынкаловская С.Н., Толстых В.М. Выделение и исследование высокомолекулярного триптического фрагмента фибриногена – ингибитора полимеризации фибрина // Укр. биохим. журн. – 1972.-44 - №4. – С. 417-421.
10. Harlow Ed, Lane D. Antibodies // Cold Spring Harbor Laboratory. - New York. - 1988. - P. 345-405.
11. Bootle-Wilbraham CA., Tazzyman S., Marshall JM., Lewis CE. Fibrinogen E-fragment inhibits the migration and tubule formation of human dermal microvascular endothelial cells in vitro. // Cancer Res. - 2000 – Vol. 60, N17. – P. 4719-24.
12. Красно брижа С.М., Горчев В.Ф., Чернишенко Т.М. и др. Процесс комплексообразования протромбину та Е-фрагмента фибрина. // Укр. біохім. журн. – 2006. – Т. 78, №3. – С.99-105.
13. Chahed K., Kabbage M., Ehret-Sabatier L. et all. Expression of fibrinogen E-fragment and fibrin E-fragment is inhibited in the human infiltrating ductal carcinoma of the breast: the two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF-mass spectrometry analyses. // Int. J. Oncol. - 2005.- Vol.27, N5. – P.1425-1431.
14. Thompson W.D., Smith E.B., Stirk C.M., Wang J. Fibrin degradation products in growth stimulatory extracts of pathological lesions. // Blood Coagul. Fibrinolysis.- 1993.- Vol.4, N1.- P. 113-115.

---

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЯВЛЕНИЯ В КРОВOTOКЕ БЕЛКОВ-МАРКЕРОВ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ДИСБАЛАНСА В ОРГАНИЗМЕ****Савчук А.Н.**

В представленной статье автором сделана попытка количественно и качественно охарактеризовать белки, которые появляются в кровотоке при различных патологиях системы гемостаза и являются маркерами дисбаланса гемостатического каскада. С использованием современных методов белковой химии показано присутствие в составе растворимых фибрин-мономерных комплексов белков с молекулярной массой от 330 до 60 кДа. Соотношение растворимых фибрин-мономерных комплексов и Д-димера может быть показателем степени нарушения баланса между свертывающей системой и фибринолитической.

**Ключові слова:** растворимые фибрин-мономерные комплексы, вестерн-блот анализ.

**INVESTIGATION OF APPEARANCE BLOOD PROTEIN – MARKERS HAEMOSTATIC DISBALANCE IN ORGANISM****Savchuk O.M.**

In the article author made an attempt to quantitatively and qualitatively characterization of protein, which appeared in blood circulation from different pathologies haemostatic system. The presents of protein from 330 to 60 kDa in composition of soluble fibrin-monomeric complexes shown with usage of modern protein chemistry methods. The soluble fibrin-monomeric complexes level and FDP analysis allows to determine the haemostasis system disbalance degree.

**Key words:** soluble fibrin-monomeric complexes, western blot analysis.

---