

С.В. ВЕРЬОВКА, Ю.Б. БУРЛАКА, Ю.Г. КЛИСЬ, Н.В. ГРИНЬ

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМ ПРОТЕЇНАЗИ-ІНГІБІТОРИ, ГЕМОСТАЗУ, ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГОСТРОФАЗОВИХ РЕАГЕНТІВ В ПЛАЗМІ КРОВІ У ХВОРИХ НА РАК ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ З МЕТОЮ ОЦІНКИ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ

*ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»
(дир. – акад. НАМН України, проф. Д.І. Заболотний)*

В основу роботи покладено виявлення можливостей прогностичної цінності комплексного визначення протеолітично-інгібіторного балансу ключових компонентів системи гемостазу, метаболічної інтоксикації та рецепторної відповіді клітин крові при онкологічних захворюваннях верхніх дихальних шляхів. Науковим обґрунтуванням дослідження є відомі фундаментальні положення щодо притаманного онкологічним процесам «протеолітичного спалаху» та розвитку метаболічної інтоксикації, внаслідок яких накопичуються проміжні та утворюються нетипові метаболіти [5, 7, 8, 15]. Останні відіграють істотну роль у перебігу патологічного процесу, і їх визначення може мати прогностичне значення [13, 14, 16].

Об'єктом дослідження були бідна на тромбоцити плазма крові та еритроцити. Обстежено 20 хворих на рак верхніх дихальних шляхів, з яких у 5 діагностовано II стадію захворювання, а у 15 – III (5 осіб з цієї стадією мали рецидив або метастази пухлини в анамнезі). Контрольну групу складала 10 практично здорових осіб.

Трипсиноподібна (ТПА) та потенційна активність в плазмі крові і еритроцитах плазміногену (ППА) після його активації стрептокіназою, визначались за швидкістю розщеплення протаміна сульфату і виражалась кількістю утвореного аргініна в 1 мл плазми крові або в 1 мл еритроцитарної маси в пробі за 1 хв [4].

Тромбіноподібна активність (ТрПА) в плазмі крові досліджувалась за методом Abilgaard [11] з використанням хромогенного субстрату Tos-Glu-Pro-Arg-параїтроаніліду і виражалась в нмоль параїтроаніліну (п-НА), утвореного під дією 1 мл плазми крові за 1 хв. Вміст α_2 -макроглобуліну (α_2 M) та α_1 -інгібітора протеїнази (α_1 ІІ) вимірювався за методом К.М. Веремеєнка та співавторів [4] і виражався в г/л.

Функціональні рівні тканинного активатора плазміногену (t-РА) та його специфічного інгібітора PAI-1 визначались за допомогою метода, розробленого А.С. Кондратюк та співавторами [9] із застосуванням в якості стимулятора активації плазміногену desAABВ-фрагмента фібрину бика.

Дослідження фібринолітичної активності (ФА) еуглобулінової фракції плазми крові проводилось методом Kowarzyk та Buluk [2].

Вміст молекул середньої маси (МСМ), тобто рівень ендogenous інтоксикації, визначався в безбілковій фракції плазми крові на спектрофотометрі СФ-26 і виражався в умовних одиницях (ум.од.), що дорівнюють оптичній густині розчину, яка вимірюється при довжині хвилі 254 нм [6].

Також в безбілкових центрифугатах плазми крові після гідролізу сіалоглікопротеїдів вивчався рівень сіалової кислоти (СК) за інтенсивністю її кольорової реакції з оц-

то-сірчаноокислим реактивом при нагріванні, який виражався в ум. од. оптичної густини, що реєструвалась при довжині хвилі 510 нм на спектрофотометрі СФ-26.

Для визначення концентрації фібриногену в плазмі крові використано метод, розроблений В.О. Беліцером та співавторами [3].

Одержані дані оброблено за допомогою методу математичної статистики. Різниця між показниками вважалась достовірною при $p \leq 0,05$ [10].

Результати дослідження активності протеїназ та їх інгібіторів в плазмі крові хворих на рак верхніх дихальних шляхів наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Активність протеолітичних ферментів та їх інгібіторів в плазмі крові у хворих на рак верхніх дихальних шляхів

Групи	ТПА, нмоль аргініна/ (хв*мл)	ППА, нмоль аргініна/ (хв*мл)	ТрПА, нмоль п-НА/ (хв*мл)	Вміст α_2M , г/л	Вміст α_1III , г/л
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів (II-а стадія)	25,0±6,0	174,0±21,5	12,5±3,0	1,80±0,28	1,8±0,2
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів (III-я стадія)	37,0±5,4 $p < 0,05$	191,0±21,0	17,0±4,5 $p > 0,05$	1,40±0,16 $p < 0,01$	2,70±0,18 $p < 0,01$
Практично здорові люди (контроль)	24,0±1,7	185,0±9,0	9,6±1,0	2,00±0,09	2,00±0,08

Примітка: p – достовірність різниці у порівнянні з показниками здорових осіб.

З даних, представлених в таблиці впливає, що як активність протеїназ, так і вміст їх інгібіторів у пацієнтів з II стадією захворювання значно не відрізнялись від відповідних показників у практично здорових людей. При III стадії онкологічного процесу було відмічено тенденцію до зростання ППА і ТрПА, статистично достовірне підвищення ТПА та рівня α_1III , а також суттєве зниження вмісту α_2M . Ці відмінності найбільш виразно проявляються при розрахунку коефіцієнтів співвідношення активності протеолітичних ферментів до вмісту їх інгібітора α_2M у хворих на рак верхніх дихальних шляхів III стадії (табл. 2).

В них коефіцієнти

$$\frac{TPA}{\alpha_2M}, \frac{ППА}{\alpha_2M} \text{ і } \frac{ТрПА}{\alpha_2M},$$

відповідно, в 2,2; 1,5 та 2,5 разів перевищували такі у практично здорових людей.

Поряд з дослідженням в плазмі крові у хворих на рак верхніх дихальних шляхів

активності протеолітичних ферментів було вивчено також ТПА та ППА в еритроцитах (табл. 3).

Як бачимо, еритроцитарна активність ТПА у хворих обох груп значних змін відносно контролю не зазнавала, а ППА, яка практично не змінювалась в плазмі крові всіх груп хворих, в еритроцитах була статистично достовірно нижчою, ніж у практично здорових людей ($p < 0,01$), причому в найбільшій мірі – при II стадії захворювання.

Виявлені протеїнази ТПА і ППА можуть бути властиві мембранам еритроцитів, які здатні адсорбувати речовини різного походження. В зв'язку з цим їх активність була досліджена в еритроцитах до і після трикратного відмивання 0,9 % розчином натрію хлориду. Як видно з табл. 4, відмиті еритроцити втрачають в середньому 55 % ТПА і 77 % ППА, що свідчить про різний ступінь міцності адсорбування їх на мембранах еритроцитів.

Таблиця 2

Коефіцієнти співвідношення активності протеїназ з вмістом α_2M в плазмі крові у хворих на рак верхніх дихальних шляхів

Групи	Коефіцієнти		
	$\frac{TPA}{\alpha_2M}$	$\frac{TpPA}{\alpha_2M}$	$\frac{TpPA}{\alpha_2M}$
Практично здорові люди (контроль)	12,0	92,5	4,8
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів			
II стадія	13,8	96,7	6,9
III стадія	26,4	136,4	12,1

Таблиця 3

Активність ТПА та ППА в еритроцитах у хворих на рак верхніх дихальних шляхів

Групи	ТПА, нмоль аргініна/(хв*мл)	ППА, нмоль аргініна/(хв*мл)
Практично здорові люди (контроль)	37,0±2,7	164,0±19,4
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів		
II стадія	35,0±10,0	90,0±15,0 p<0,01
III стадія	35,0±4,8	108,0±14,0 p<0,05

Примітка: p – достовірність різниці у порівнянні з показниками здорових осіб.

Таблиця 4

ТПА та ППА в еритроцитах у хворих на рак верхніх дихальних шляхів до і після трикратного відмивання 0,9% розчином натрію хлориду

Об'єкт дослідження	ТПА, нмоль аргініна/ (хв.мл)	Втрата активності, %	ППА, нмоль аргініна/ (хв.мл)	Втрата активності, %
Еритроцити крові до відмивання	49,0±8,7	0	165,0±16,0	0
Еритроцити крові після відмивання	22,0±4,9	55	38,0±0,9	77

Результати дослідження фібринолітичної активності, t-PA і рівня PAI-1 підсумовані в табл. 5. Вони свідчать про те, що швидкість фібринолізу у хворих на рак верхніх дихальних шляхів в порівнянні з її контрольним значенням знижується: при II стадії злоякісного процесу – на рівні тенденції, а у пацієнтів з III стадією – суттєво (p<0,02). У останніх була значно зниженою відносно контролю активність t-PA (в 2,4 рази), а

рівень PAI-1, навпаки, перевищував контрольний показник в 1,9 рази.

Результати досліджень МСМ, СК та фібриногену підсумовані в таблиці 6. Вони свідчать про наступне. При злоякісних новоутвореннях верхніх дихальних шляхів істотних змін кількісного вмісту МСМ не виявлено. Для хворих з II та з III стадією пухлинного процесу з наявністю рецидиву або метастазів рівень МСМ практично дорі-

внював такому в контролі, а при III стадії захворювання він дещо збільшувався в по-

рівнянні з контрольними даними, але на рівні тенденції ($p>0,1$).

Таблиця 5

Показники системи гемостазу в плазмі крові у хворих на рак верхніх дихальних шляхів та у практично здорових людей

Групи	Показники		
	фібринолітична активність, хв	активність t-PA, IU/мл	півень PAI-1, IU/мл
Практично здорові люди (контроль)	207±12	1,94±0,45	16,4±4,1
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів			
II стадія	239±23 $p>0,5$	–	–
III стадія	252±10 $p<0,02$	0,82±0,20 $p<0,05$	30,8±2,1 $p<0,01$

Примітка: p – достовірність різниці у порівнянні з показниками здорових осіб.

Вміст СК у хворих з II стадією раку верхніх дихальних шляхів перебував на рівні його контрольних значень. При III стадії захворювання спостерігалась тенденція до його підвищення відносно контрольного значення цього показника ($p>0,1$), а у хворих з III стадією з рецидивом або метастазами пухлини вміст СК був значно вищим ($p<0,001$) порівняно з контролем. Статистично достовірно більший рівень СК у цих хворих був і в порівнянні з даними в групі пацієнтів з III стадією раку верхніх дихаль-

них шляхів без ускладнення рецидивом або метастазами ($p<0,05$).

Що стосується фібриногену, то його концентрація в плазмі крові статистично достовірно збільшувались в усіх групах обстежених хворих, але в різному ступені: найменше – при раку II стадії (майже в 1,4 рази), при III стадії хвороби – в більшій мірі (в 1,7 рази), а найбільш суттєве зростання цього показника (в 1,9 рази) спостерігалось у пацієнтів з III стадією з рецидивом або метастазами пухлини.

Таблиця 6

Рівень МСМ, СК та фібриногену в плазмі крові у хворих на рак верхніх дихальних шляхів

Групи	Показник		
	МСМ, ум.од.	СК, ум.од.	фібриногену, г/л
Контрольна група	0,140±0,002	0,120±0,006	2,2±0,1
Хворі на рак верхніх дихальних шляхів			
II стадія	0,138±0,008	0,115±0,015	3,0±0,2 $p<0,01$
III стадія	0,152±0,007 $p>0,1$	0,145±0,015 $p>0,1$	3,8±0,6 $p<0,02$
III стадія з рецидивом або метастазами пухлини	0,144±0,007 $p>0,1$	0,190±0,015 $p<0,001$ $p<0,05$	4,1±0,2 $p<0,001$

Примітки: p – достовірність різниці між відповідними даними у хворих та здорових осіб; p' – достовірність різниці між відповідними даними в групі хворих з III стадією раку гортані та з III стадією з рецидивом або метастазами.

Таким чином, в результаті проведених досліджень виявлено наступне. На ранній стадії ракового процесу ТПА, вміст α_1 П, СК, МСМ в плазмі крові практично були близькими до аналогічних показників умовно здорових людей. Щодо ТрПА, то вона мала тенденцію до зростання, а концентрація фібриногену статистично достовірно перевищувала показник контролю.

На більш пізній – III-й стадії рака відмічались значно суттєвіші зміни досліджуваних компонентів гемостазу. ТПА, ТрПА, вміст α_1 П, СК і МСМ були набагато вищими, ніж в контрольній групі. В той же час швидкість фібринолізу, активність t-РА та рівень α_2 М суттєво знижувались. Підвищення ТрПА, а також концентрації фібриногену та РАІ-1 асоціювалось з гальмуванням загального фібринолізу та зменшенням активності t-РА в плазмі крові, що

може свідчити про загрозу можливого виникнення тромботичних ускладнень у хворих з III стадією раку верхніх дихальних шляхів.

Зростання рівнів α_1 П, МСМ, СК та вмісту фібриногену в плазмі крові у пацієнтів з III стадією раку верхніх дихальних шляхів вказує на наявність в них гострої фази запалення. Крім того, визначення вмісту СК в поєднанні з рівнем фібриногена може бути додатковим критерієм оцінки тяжкості пухлинного процесу.

В подальшому комплексне дослідження показників протеолізу, фібринолізу, гострофазових реагентів та ендогенної інтоксикації в плазмі крові може бути використано для передбачення перебігу онкологічних захворювань верхніх дихальних шляхів і оцінки ефективності лікування таких хворих.

Література

1. Аванченко Н.И. / Метод. указания к лабораторным работам по клинической биохимии. – Харьков, 1991. – С. 26.
2. Андреев Г.В., Карабасова М.А., Лютова Л.В. и соавт. Методы исследования фибринолитической системы крови. – М.: Изд-во Московск. ун-та, 1981. – С. 40-42.
3. Белицер В.А., Варецкая Т.В., Веремеенко К.Н. и соавт. Методы определения фибриногена и компонентов фибринолиза плазмы крови человека / Метод. рекомендации. – Киев, 1983. – 20 с.
4. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – 1988. – Киев: Здоров'я, 200 с.
5. Веремеенко К.Н., Заболотный Д.И., Кизим А.И. Роль протеолиза в инвазии и метастазировании злокачественных опухолей // Журн. АМН України. – 2002. – Т.8, №2. – С. 217-237.
6. Жаденов И.И., Карякина Е.В., Белова С.В., Горячев В.И. Способ определения эндогенной интоксикации // Патент RU 2193780 C1 G 01N33/68, G 01N33/48. Заявл. 26.04.2001, Оpubл. 27.11.2002. №7. – С. 935-948.
7. Карамышева А.Ф. Механизмы ангиогенеза // Биохимия. – 2008. – Т.73,
8. Клысь Ю.Г., Зайцева Н.В., Кизим А.И., Веревка С.В. Протеолитические производные плазминогена при развитии злокачественных новообразований // Онкология. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 17-21.
9. Кондратюк А.С., Юсова О.И., Гриненко Т.В. Визначення активності тканинного активатора плазміногену в плазмі крові // Лабор. діагностика – 2011. – № 3 (57). – С. 3-9.
10. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Пат. физиол. – 1960. – №4. – С. 76-85.
11. Abilgaard U., Odegard O.R. Antitrombin assay with new chromogenic substrates (S-2238 and chromozym TH) // Tromb. Res. – 1977. – Vol. 11, №4. – P. 549-553.
12. Kowarzyk H., Buluk K. Advances in the field of blood coagulation // Advances Hid. Exp. Med. – 1950. – Vol. 2. – P. 1-5.
13. Lance A. Liotta L.A., Petricoin E.F. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold // J. Clin. Inves. – 2006. – Vol. 116, № 1. – P. 26-30.
14. Ling S.-L., Chan D. Enzymes and related proteins as cancer biomarkers: a proteomic approach // Clin. Chim. Acta. – 2007. – V.381, №1. – P.93-97.
15. Mc Intyre J., Matrisian L. Molecular imaging of proteolytic activity in cancer // J. Cell. Biochem. – 2003. – Vol.90, № 6. – P.1087-1097.
16. Ocak S., Stuart S., Ausborn J., Friedman D., Massion P. Identification of membrane-associated proteins as a new candidate biomarkers of small-

References

1. Avanchenko NI. Methodological clinical biochemical instructions for laboratory tests. 1991:26 p. Russian.
2. Andreenko GV, Karabasova MA, Lutova LV. Methods for studying of the fibrinolytic blood system. Moscow; 1981:40-2. Russian.
3. Belitzer VA, Varetskaya TV, Veremeenko KN. Methods for the determination of fibrinogen and components of fibrinolysis of human blood plasma. Kiev;1983:20 p. Russian.
4. Veremeenko KN, Goloborodko OP, Kizim AI. Proteolysis is normal and with pathology. Kiev; 1988:200 p. Russian.
5. Veremeenko KN, Zabolotny DI, Kizim AI. The Role of Proteolysis in the Invasion and Metastasis of Malignant Tumors, Zhurnal AMS of Ukraine. 2002;8(2):217-37. Russian.
6. Jadenov II, Karyakina EV, Belova SV, Goryachev VI. The method for determining endogenous intoxication. Declarative Patent of Ukraine №2193780. Official bulletin «Industrial Property». 2002;(7): 935-48.Ukrainian.
7. Karamysheva A.F. The mechanisms of angiogenesis. Biochemistry. 2008:73. Russian.
8. Klys YG, Zaitseva NV, Kizim AI, Verevka SV. Proteolytic derivatives of plasminogen in the appearance of malignant neoplasms. Oncology. 2010;12(1):17-21. Russian.
9. Kondratyuk AS, Yusova OI, Grinenko TV. Determination of the activity of the tissue plasminogen activator in the plasma of the human blood. Laboratory diagnostics. 2011:57(3):3-9. Ukrainian.
10. Ovin IA. Statistical processing of experimental research results. Pathological physiology. 1960; (4):76-85. Russian.
11. Abilgaard U, Odegard OR. Antitrombin assay with new chromogenic substrates (S-2238 and chromozym TH). Tromb. Res. 1977;11(4):549-53.
12. Kowarzyk H, Buluk K. Advances in the field of blood coagulation. Advances Hid. Exp. Med. 1950;2:1-5.
13. Lance A, Liotta LA, Petricoin EF. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold. J Clin Inves. 2006;116(1):26-30.
14. Ling S-L, Chan D. Enzymes and related proteins as cancer biomarkers: a proteomic approach. Clin Chim Acta. 2007;381(1):93-7.
15. Mc Intyre J, Matrisian L. Molecular imaging of proteolytic activity in cancer. J Cell Biochem. 2003;90(6):1087-97.
16. Ocak S, Stuart S, Ausborn J, Friedman D, Massion P. Identification of membrane-associated proteins as a new candidate biomarkers of small-cell lung cancer. Eur Respiratory J. 2010;36(Suppl. 54): 1944.

Надійшла до редакції 23.03.18.

© С.В. Верьовка, Ю.Б. Бурлака, Ю.Г. Клись, Н.В. Зайцева, 2018

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМ ПРОТЕЇНАЗИ-ІНГІБІТОРИ, ГЕМОСТАЗУ, ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГОСТРОФАЗОВИХ РЕАГЕНТІВ В ПЛАЗМІ КРОВІ У ХВОРИХ НА РАК ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ З МЕТОЮ ОЦІНКИ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ

Верьовка С.В., Бурлака Ю.Б., Клись Ю.Г., Гринь Н.В. (Київ)

А н о т а ц і я

Мета дослідження: Компоненти системи інгібіторів протеолізу, гомеостазу, вміст молекул середньої маси служать маркерами метаболічної інтоксикації. Було вивчено вміст цих показників в плазмі крові пацієнтів з метою виявлення особливостей змін та динаміки відмінностей в залежності від стадії раку верхніх дихальних шляхів.

Матеріали та методи: Обстежено 20 хворих на рак верхніх дихальних шляхів, з яких у 5 діагностовано II стадію захворювання, а у 15 – III-ю (5 осіб з цією стадією мали рецидив або метастази пухлини в анамнезі). Контрольну групу склали 10 практично здорових осіб.

Результати: На ранній стадії ракового процесу ТПА, вміст α_1 Щ, СК, МСМ в плазмі крові практично були близькими до аналогічних показників умовно здорових людей. Щодо ТрПА, то вона мала тенденцію до зростання, а концентрація фібриногену статистично достовірно перевищувала показник контролю.

На більш пізній – III-й стадії рака відмічались суттєвіші зміни досліджуваних компонентів гемостазу. ТПА, ТрПА, вміст α_1 Щ, СК і МСМ був достовірно вищим, ніж в контрольній групі. В той же час швидкість фібринолізу, активність 1-РА та рівень α_2 М суттєво знижувались. Підвищення ТрПА, а також концентрації фібриногену та PAI-1 асоціювалось з гальмуванням загального фібринолізу та зменшенням активності 1-РА в плазмі крові, що може свідчити про загрозу можливого виникнення тромботичних ускладнень у хворих з III стадією раку верхніх дихальних шляхів.

Висновки: доведено, що найбільш очевидні зміни біохімічних показників виявлялись у хворих на рак верхніх дихальних шляхів III стадії.

Ключові слова: рак верхніх дихальних шляхів, тромбіноподібна активність, альфа-2-макроглобулін, трипсиноподібна активність, тромботичні ускладнення, молекули середньої маси

THE INVESTIGATION OF PROTEINASE-INHIBITORS, HAEMOSTATIC, ENDOGENIC INTOXICATION SYSTEMS COMPONENTS AND THE ACUTE PHASE REAGENTS LEVELS IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH UPPER RESPIRATORY TRACT CANCER

Verevka SV, Burlaka YuB, Klys YuG, Zaitseva NV

State institution «O.S. Kolomiychenko Institute of Otolaryngology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; e-mail: amtc@kndio.kiev.ua

Abstract

Aim: The components of proteolysis-inhibitors and homeostasis system, medium – mass molecules serves as markers for metabolic intoxication. Researchers have studied these indicators in the blood of patients in order to identify the features of the changes and the dynamics of the differences depending on the stage of upper airway carcinoma.

Materials and Methods: 20 patients with cancer of the upper respiratory tract were examined, of which 5 were diagnosed with stage II of the disease, and 15 – stage III (5 persons with this stage had a relapse or a history of metastases in the tumors). The control group consisted of 10 practically healthy persons.

Results: In the early stage of the cancer process, trypsin-like activity, the content of sialic acid, the molecules of the average mass in blood plasma were almost similar to those of conditionally healthy people. Regarding thrombin-like activity, it tended to increase, and the concentration of fibrinogen was statistically significantly higher than the control.

The increase in thrombin-like activity, as well as the concentration of fibrinogen and PAI-1, was associated with inhibition of general fibrinolysis and a decrease in 1-PA activity in blood plasma, which may indicate a possible threat of thrombotic complications in patients with the third stage of upper airway carcinoma. At the 3rd stage of cancer, more significant changes were observed in the haemostasis components. Trypsin-like activity, thrombin-like activity, sialic acid and medium-weight molecules were much higher than in the control group. At the same time, the rate of fibrinolysis, activity of 1-PA and level of alpha-2-macroglobulin significantly decreased. The observed increased of coagulative link system homeostasis activity on the background of fibrinolytic activity inhibition testify about possible risk of the thrombotic complications in patients with upper airway carcinoma.

Conclusions: It is shown, that the most essential changes of biochemical ingredients were inherent to the patient with III stage of oncological diseases.

Key words: upper respiratory tract cancer, thrombin-like activity, alpha-2-macroglobulin, trypsin-like activity, thrombotic complications, medium-mass molecules.