

**Міністерство охорони здоров'я України
Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів
Вінницького національного медичного університету
ім. М. І. Пирогова**



КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ТРОМБОФІЛІЙ

Методичні рекомендації

Вінниця 2009

Міністерство охорони здоров'я України
Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів
Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Начальник Відділу
медико-соціальної експертизи
та проблем інвалідності
МОЗ України

В. В. Маруніч

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ТРОМБОФІЛІЙ

Методичні рекомендації

Вінниця 2009

УДК: 616.151.5

Установа-розробник: НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М. І. Пирогова,
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Автори: Н.В. Заїчко, к.мед.н.
Ю.О. Безсмертний, к.мед.н.
Т.М. Платонова, д.біол.н.
Т.М. Чернишенко

Рецензенти: О. О. Пентюк, д. мед.н.
М. А. Станіславчук, д.мед.н.

В методичних рекомендаціях представлені сучасна класифікація тромбофілій, фактори ризику тромбофілій, критерії відбору хворих для скринінгу тромбофілій, підходи до лабораторної діагностики тромбофілій.

ЗМІСТ

	Стор.
Вступ	4
I. Тромбофілія: визначення, класифікація, фактори ризику, критерії відбору пацієнтів для скринінгу	5
II. Лабораторна діагностика тромбофілій	11
• Тести для оцінки стану системи гемостазу при тромбофілії	11
• Лабораторні тести для виявлення причини тромбофілій	21
III. Діагностика гіперреактивності тромбоцитів як фактора ризику тромбофілій	25
Література	33

ВСТУП

Захворювання серцево-судинної системи посідають одне з перших місць серед причин смертності та інвалідизації населення. Першим, а можливо і фатальним, маніфестом уражень серцево-судинної системи бувають тромбози. За даними ВООЗ тромбози спричиняють 95% інфарктів міокарду та 85% ішемічних інсультів, і в цілому зумовлюють близько 14 млн. смертей на рік. З віком ризик тромбозів істотно зростає, зокрема, їх частота серед осіб молодших 15 років є меншою 5 випадків на 100 000 населення, тоді як серед осіб старших 80 років - біля 500 випадків (0,5%) на 100 000 населення. В більшості випадків як артеріальні, так і венозні тромбози мають тенденцію до повторення, при цьому важкість їх наслідків зростає.

Незважаючи на значний прогрес в розумінні механізмів розвитку судинних катастроф та розробці підходів до їх фармакотерапії, проблема втрати чи обмеження працездатності внаслідок захворювань серцево-судинної системи залишається далекою від вирішення. Особливу тривогу викликає той факт, що в останні роки виникає тенденція до омолодження контингенту осіб, які втратили працездатність внаслідок ускладнення основного захворювання тромбозами артеріальних чи венозних судин. Ця проблема є не лише медичною, а й соціально-економічною, а щорічні витрати, пов'язані з реабілітацією таких пацієнтів, є досить значними.

Підґрунтям для розвитку тромбозу у значної частини пацієнтів є тромбофілія, а саме прихована схильність до посиленого тромбоутворення. Формування тромбофілії можуть викликати як генетично-обумовлені, так і набуті чинники, в тому числі і метаболічні порушення. Тому вивчення факторів ризику тромботичних ускладнень у пацієнтів з ураженнями серцево-судинної системи, своєчасна діагностика тромбофілії та розробка індивідуальної програми профілактики тромбозів на ранніх етапах відноситься до актуальних завдань медико-соціальної експертизи та реабілітації інвалідів.

I. ТРОМБОФІЛІЯ: ВИЗНАЧЕННЯ, КЛАСИФІКАЦІЯ, ФАКТОРИ РИЗИКУ

Тромбофілія – це підвищена схильність до тромбозів кровоносних судин, в основі якої лежать порушення в різних ланках системи гемостазу та гемореології. Термін “тромбофілія” не слід ототожнювати з терміном “гіперкоагуляційний стан”, оскільки при тромбофіліях підвищення схильності до спонтанного тромбоутворення незавжди є наслідком порушень процесів гемокоагуляції, а обумовлено розладами інших ланок системи гемостазу.

Ще з часів Вірхова відомі три основних причини тромбогенезу – порушення цілісності судинної стінки, порушення гемореології та порушення в системі зсідання крові. В останні роки відмічається значний прогрес у вивченні спектру та молекулярних механізмів порушень в системі гемостазу, причетних до формування підвищеної схильності до тромбозів (тромбофілій). Сьогодні виділена велика кількість первинних (генетично-обумовлених) та вторинних (набутих) тромбофілій, які відрізняються етіологією, характером порушень, ускладненнями та прогнозом, і, не зважаючи на спільність проявів, потребують різних діагностичних, профілактичних та лікувальних заходів.

Класифікація основних видів тромбофілій за З.С.Баркаганом (1999):

1. Гемореологічні форми

- 1.1. Поліглобулії, поліцитемії, синдроми підвищеної в'язкості крові.
- 1.2. Гемоглобінопатії, які супроводжуються зниженням здатності еритроцитів до деформації.
- 1.3. Форми, зв'язані з гіпервіскозністю плазми (парапротеїнемії, гіперфібриногенемії).

2. Форми, обумовлені порушеннями судинно-тромбоцитарного гемостазу

- 2.1. Тромбоцитемії та гіпертромбоцитозі (первинні, симптоматичні, в тому числі непластичні).

- 2.2.Форми з підвищеною спонтанною агрегацією та адгезивністю тромбоцитів та/або з підвищеною чутливістю до агоністів агрегації (колагену, АДФ, адреналіну, арахідоновій кислоті), в тому числі “синдром липких тромбоцитів”.
- 2.3.Форми, обумовлені гіперпродукцією та підвищеною мультимерністю фактора фон Віллебранда, а також зі зниженням антиагрегантного потенціалу плазми – тромботична тромбоцитопенічна пурпура (хвороба Мошковіц), мікроангіопатична гемолітична анемія та ін.
3. *Форми, зв'язані з дефіцитом та /або аномаліями первинних фізіологічних антикоагулянтів*
- 3.1.Дефіцит та/або аномалія антитромбіну III.
- 3.2.Дефіцит та/або аномалія протеїну C.
- 3.3.Дефіцит та/або аномалія протеїну S.
- 3.4.Дефіцит та/або аномалія тромбомодуліну.
- 3.5.Дефіцит та/або аномалія інгібітору зовнішнього шляху активації зсідання крові (TFPI).
- 3.6.Надлишок інгібітору протеїну C.
- 3.7.Дефіцит коф актору II гепарину.
- 3.8.Надлишок багатого гістидином глікопротеїну – інгібітору комплексу плазмовий антитромбін-гепарин.
4. *Форми, зв'язані з дефіцитом чи аномаліями плазменних факторів зсідання крові та фібринолізу*
- 4.1.Аномалії фактору V (Лейден), резистентність до активованого протеїну C.
- 4.2.Тромбогенні дисфібриногенемії.
- 4.3.Дефіцит та /або аномалії плазминогену.
- 4.4.Дефіцит та порушення вивільнення тканинного активатору плазміногену.
- 4.5.Високий рівень інгібіторів активаторів плазминогену (PAI-1, PAI-2).

- 4.6. Рідкісні форми (дефіцит фактору XII, плазменного прекалікреїну, високомолекулярного кініногену).
5. *Форми, зв'язані з підвищенням рівня та недостатньою інактивацією факторів зсідання крові*
- 5.1. Підвищення рівня та ступеню активації комплексу тканинний фактор + фактор VII + фактор Ха + Ca²⁺, в тому числі і симптоматичні форми при гестозах, гіперліпідеміях, атеросклерозі, вісцеральних видах раку.
- 5.2. Підвищення рівня фактору VIII.
- 5.3. Гіперфібриногенемія.
6. *Автоімунні та інфекційно-імунні тромбофілії*
- 6.1. Антифосфоліпідний синдром.
- 6.1.1. Первинний антифосфоліпідний синдром.
- 6.1.2. Вторинний антифосфоліпідний синдром при системних імунних захворюваннях та пухлинах: форми з антитілами до аннексину V, протромбіну, протеїну C.
- 6.2. При хворобі та синдромі Бехчета.
- 6.3. При імунних тромбоваскулітах
- 6.4. При інфекційно-імунних захворюваннях.
- 6.4.1. Тромбогеморрагічні лихоманки.
- 6.4.2. Гемолітикоуремічний синдром.
- 6.4.3. При бактеріальному ендокардиті, сепсисі.
7. *Паранеопластичні форми*
- 7.1. Синдром Труссо.
8. *Метаболічні форми з комплексом порушень в різних ланках системи гемостазу*
- 8.1. Діабет та діабетичні ангіопатії.
- 8.2. Гіперліпідемії: вроджені та симптоматичні.
- 8.3. Гіпергомоцистеїнемія, гомоцистеїнурія: генетично-обумовлена (рання) та набута симптоматична (пізня).
- 8.4. Гіперурикемія (спадкова, вторинна).

9. Ятрогенні (в тому числі і медикаментозні) форми

9.1. При катетеризації судин, стентуванні та шунтуванні судин, протезуванні клапанів серця, імплантації кава-фільтрів, тромбоектомії.

9.2. Медикаментозні форми.

9.2.1. При прийомі естрогенних контрацептивів.

9.2.2. Форми, обумовлені гемостатичною терапією – концентратами факторів протромбінового комплексу, десмопресину та ін.

9.2.3. Форми, викликані прийомом антикоагулянтів: гепарин-індукована тромбоцитопенія, кумаринові тромботичні некрози шкіри.

9.2.4. Тромбози при лікування інгібіторами фібринолізу.

9.3. При трансплантації кісткового мозку (печінкова венозна окклюзивна хвороба).

9.4. Тромбози при гемотерапії онкологічних захворювань.

9.5. Тромбози змішаного генезу.

До клінічних проявів тромбофілії відносять:

- Спонтанні тромбози - тромбози, які виникають за відсутності явних ситуацій ризику (оперативні втручання, іммобілізація, тощо)
- Тромбози незвичайної локалізації – тромбози, які виявляються поза венозною системою нижніх кінцівок та тазу, зокрема тромбози судин верхніх кінцівок та брижових судин.
- Рання перша маніфестація тромбозу – виникнення тромбозу до 45 років.
- Рецидивні тромбози – незалежно від локалізації другий та всі наступні епізоди тромбозу вважають рецидивами, при цьому важливе значення має інтервал між епізодами тромбозу. Виникнення тромбозу під час прийому пероральних антикоагулянтів свідчить про високу схильність до спонтанного тромбоутворення.
- Сімейна схильність – підвищена схильність до тромбозів у членів родини при наявності спадкових факторів ризику тромбофілії.

- Схильність до абортів – у жінок з повторними абортами фактори ризику тромбофілії виявляються частіше. Одиначний аборт не вважається показом до проведення діагностики тромбофілії.

Вторинні набуті фактори ризику тромбофілій та венозних тромбозів

1. *Обумовлені стазом* – іммобілізація, ожиріння, серцева недостатність, інсульт, зневоднення, вагітність, підвищена в'язкість крові, варикозне розширення вен.
2. *Обумовлені активацією зсідання крові* – великі хірургічні операції, травми, злоякісні новоутворення, антифосфоліпідні антитіла, пероральні контрацептиви, естрогенотерапія, нефротичний синдром.
3. *Обумовлені порушенням тромбоцитів* – гіперактивні тромбоцити, тромбоцитоз, пароксизмальна нічна гемоглобінурія, трансфузії з концентратами фактору IX.
4. *Обумовлені різними факторами* – вік, сепсис, високий рівень фібриногену, високий рівень фактору VII.

Ризик тромбозів у пацієнтів, які не отримують антикоагулянти

Середній ризик

- Іммобілізований пацієнт віком до 40 років
- Загальнохірургічні втручання тривалістю менше 30 хвилин

Високий ризик

- Мобільний пацієнт віком старший 40 років з інвазивним втручанням
- Іммобілізований пацієнт віком більше 40 років
- Загально хірургічне втручання тривалістю менше 30 хвилин у хворого віком більше 40 років
- Іммобілізуючі пов'язки
- Пацієнти терапевтичного профілю

Надзвичайно високий ризик

- Загальнохірургічні втручання тривалістю більше 30 хвилин у хворих віком більше 60 років

- Ортопедичні і травматологічні втручання на коліні та стегні
- Попередній тромбоз під час медикаментозної профілактики

Клінічні критерії відбору хворих для скринінгу на тромбофілію

1. Виключення причин тромбозу, зв'язаних з набутими захворюваннями – антифосфоліпідним синдромом, злоякісними новоутвореннями, мієлопроліферативними порушеннями.
2. Розвиток першого венозного тромбозу у віці до 40 років.
3. Тромбоемболія легеневої артерії, підтверджена ангіографією, венографією, скануванням легень.
4. Нетипова локалізація тромбозу (в мезентеріальних, ниркових, порталних або церебральних венах).
5. Рецидивуючий тромбоз поверхневих вен.
6. Оцінка клінічних факторів ризику розвитку тромбозу.
7. Злоякісна пурпура новонароджених або масивний тромбоз в неонатальному періоді.
8. Сімейний тромботичний анамнез.
9. Рецидивуючий тромбоз у віці до 40 років при відсутності сімейного тромботичного анамнезу.
10. Тромбоз церебральних артерій, інфаркт міокарду, оклюзія периферійних артерій у віці до 40-50 років.
11. Рецидив оклюзії периферійної артерії на тлі успішного хірургічного лікування.
12. Варфарин-індуковані некрози шкіри.

II. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ТРОМБОФІЛІЙ

Для виявлення тромбофілічного стану не існує єдиного інформативного лабораторного діагностичного тесту. Тому діагностика стану гемостазу повинна базуватися на комплексному аналізі показників, що сприяють з'ясуванню механізмів тромбоутворення при даній патології і є маркерами активації системи зсідання крові. За наявності відповідної клінічної ситуації та симптомів тромбофілії, виявлення сукупності хоча б чотирьох-п'яти із основних та додаткових лабораторних ознак повинно розглядатися як підтвердження діагнозу та слугувати основою для проведення необхідної патогенетичної терапії.

Лабораторні тести, які застосовуються для діагностики тромбофілій можна розділити на

- *Тести для оцінки стану системи гемостазу* – дозволяють виявити порушення рівноваги між окремими ланками системи гемостазу, з'ясувати ризик тромбозу на момент дослідження, вирішити питання щодо призначення антикоагулянтів. Ця група тестів не дозволяє встановити причину тромбофілії, а лише спрямовує її пошук.
- *Тести для виявлення причин тромбофілії.* Ці тести дозволяють визначити причину тромбофілії, але не дають уявлення стосовно ризику тромбозу на момент дослідження. В цю групи можна віднести:
 - *Антигенні тести* - дозволяють визначити концентрацію факторів системи гемостазу речовини (імунохімічні, радіоімунні та ін. методи)
 - *Молекулярно-генетичні тести* – дозволяють виявити мутації генів та провести експресійний аналіз окремих генних продуктів (методом ПЛР).
- *Тести для оцінки стану системи гемостазу при тромбофілії*

В цій групі виділяють **попередні скринінгові тести**, які відображають послідовність активації компонентів системи гемостазу (час кровотечі, протромбіновий час (ПЧ), активований тромбопластиновий час (АЧТЧ), визначення вмісту фібриногену та величини гематокриту, лізис

еуглобулінової фракції). Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють конкретизувати напрямок пошуку порушеної ланки гемостазу (табл.1).

Таблиця 1

Скринінгові тести для аналізу стану системи гемостазу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Активованій частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ). Норма - 27-45 с	Характеристика процесу активації факторів внутрішнього шляху зсідання крові. Виявлення порушення рівноваги між прокоагулянтами та антикоагулянтами.
Протромбіновий час (ПЧ) Норма - 13-18 с	Характеристика процесу активації факторів зовнішнього шляху зсідання крові. Виявлення порушення рівноваги між прокоагулянтами та антикоагулянтами.
Тромбіновий час (ТЧ) Норма - 15-25 с	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові (перетворення фібриногену в фібрин). Виявлення гіпофібриногенемії і інгібіторів, що блокують дію тромбіну
Вміст фібриногену Норма – 1,8-3,5 г/л	Виявлення гіпо- та гіперфібриногенемії
Загальна фібринолітична активність плазми крові Норма – 150 – 300 хв	Фібринолітична активність плазми крові

До маркерів активації відносять:

- *Ранні маркери активації тромбіну* – фрагменти протромбіну F1+2 та комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ).
- *Маркери, які характеризують ступінь активації системи зсідання крові* - фібрин-мономери (РФМК) та фібринопептид А.
- *Пізні маркери, які з'являються після утворення фібрину* - D-димер. D-димер є маркером як фібриноутворення, так і фібринолітичної активності.

Маркери активації мають різний період напіввиведення з системи циркуляції:

- Фібринопептид А – 3-5 хвилин;

- ТАТ – 15 хвилин;
- F 1+2 – 90 хвилин;
- РФМК та D-димери – декілька годин.

Діагностична значимість цих тестів визначається тим, що виявлені порушення дозволяють визначити ризик тромбозу на момент дослідження та обрати тактику лікування та проконтролювати його ефективність (табл.2).

Таблиця 2

Лабораторні тести для оцінки ризику та діагностики тромбозу

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК)	Маркери тромбінемії, викликають посилення агрегації тромбоцитів
Екамуліновий час (ЕЧ)	Виявлення функціонально-неактивних форм протромбіну - маркера тромбінемії. Контроль ефективності лікування антикоагулянтами непрямої дії
Анцистроновий час (АЧ)	Характеристика кінцевого етапу зсідання крові під дією тромбіноподібного ферменту, який нечутливий до дії гепаринів. Одночасне скорочення часу зсідання плазми крові в тестах ТЧ та АЧ є показником розвитку тромбофілії.
D-димер	Продукти деградації фібрину, що входили до складу тромбу. Характеризує інтенсивність утворення та лізису фібринових згустків. Маркер тромбозу.
Комплекси тромбін-антитромбін (ТАТ)	Маркер гострого тромбозу. Присутність ТАТ в плазмі свідчить про утворення тромбіну в момент дослідження і про можливе виснаження резервів антикоагулянтів.
Фрагменти протромбіну F1+2	Відображають активність перетворення протромбіну в тромбін за участі протромбіназного комплексу (фактор Ха, фактор Va, фосфоліпідів та Ca ²⁺), який функціонує в умовах активації системи зсідання крові.

РФМК є одним із головних показників стану гіперкоагуляції. Це олігомерні комплекси фібрину з фібриногеном та продуктами деградації фібрину/фібриногену. Накопичення РФМК свідчить про активацію системи зсідання крові, але й про порушення динамічної рівноваги між функціонуванням системи зсідання крові та фібринолізом. Розроблено декілька методів визначення РФМК в плазмі крові: імуноферментний та паракоагуляційні (етаноловий, протамінсульфатний, бета-нафтоловий, фосфатний). Останнім часом для виявлення РФМК запропоновано ортофенантроліновий тест та імунологічні тести. Порівняльний аналіз етанолового, протамінсульфатного, бета-нафтолового та фосфатного методів показав перевагу фосфатного тесту, що полягає в простоті, чутливості (виявляються навіть слідові кількості РФМК) та достовірності результатів. Результати оцінюють напівкількісно за кількістю та формою осаду: дрібні часточки – 0,035 мг/мл, пластівцеподібна муть – 0,07 мг/мл, нитки та пластівці в осаді – 0,105 мг/мл, гелеподібний осад – 0,14 мг/мл.

За результатами наших досліджень середній вміст РФМК в плазмі крові пацієнтів з ТЕЛА становив $0,036 \pm 0,007$ мг/мл, з опіковою травмою – 0,053 мг/мл, гострим інфарктом міокарду – $0,050 \pm 0,007$ мг/мл, у пацієнтів з ПТФС - $0,029 \pm 0,008$.

Екамуліновий час (ЕЧ) та функціонально неактивні форми протромбіну (ФНФП). Екамулін – фермент-активатор протромбіну, виділений з отрути ефі багатолускової. На відміну від тромбoplastину, який активує лише функціонально активний протромбін, екамулін активує як протромбін, так і його функціонально неактивні форми. При тромбінемії кількість ФНФП буде зростати, оскільки тромбін розщеплює протромбін з утворенням претромбіну 1 (неактивна форма). Виявити накопичення ФНФП можна при порівнянні результатів протромбінового та екамулінового тестів. Контрольний час зсідання донорської плазми в екамуліновому тесті - 120 с.

Результати тесту екамуліновий час можна представити як екамуліновий індекс – співвідношення часу зсідання плазми крові донорів та досліджуваної крові (при проведенні коагулометричного варіанту тесту). При накопиченні в плазмі крові функціонально неактивних форм протромбіну екамуліновий індекс вище за протромбіновий. Значення екамулінового індекса відповідає загальному рівню протромбіну в плазмі крові. На основі дослідження впливу препаратів претромбіну на час зсідання плазми крові донорів в тесті екамуліновий час було встановлено кількісні закономірності щодо вмісту ФНФП. Якщо екамуліновий індекс вище протромбінового індексу на 10-20%, вміст ФНФП становить 1,2 мкг/мл, 20-40% - 2,4 мкг/мл, 40-60% - 3,6 мкг/мл.

При проведенні екамулінового та протромбінового тестів амідолітичним методом з використанням хромогенного субстрату можна визначити індекс накопичення ФНФП. Для розрахунку цього індексу результати протромбінового та екамулінового тестів представляють у вигляді протромбінового відношення (ПВ) та екамулінового відношення (ЕВ):

$$\text{ПВ} = (A_d/A_k)^{\text{МІЧ}} \quad (1),$$

$$\text{ЕВ} = A_d/A_k \quad (2),$$

де: A_d – екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності досліджуваної плазми крові під дією тромбoplastину (1) та екамуліну (2)), A_k - екстинція при довжині хвилі 405-492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі «Рідер» (відповідає амідолітичній активності контрольної плазми крові донорів під дією тромбoplastину (1) та екамуліну (2)), **МІЧ** - Міжнародний Індекс Чутливості тромбoplastину.

Індекс накопичення ФНФП розраховують як співвідношення між екамуліновим та протромбіновим відношеннями:

$$\text{Індекс накопичення ФНФП} = \text{ЕВ/ПВ} \quad (3).$$

Співвідношення $\text{ЕВ/ПВ}=1$ відповідає нормі. Якщо отриманий індекс

становить 1,2 та вище, то це є ознакою накопичення ФНФП в плазмі крові.

Приклад розрахунку:

Так, наприклад, в плазмі крові пацієнта:

- протромбінове відношення складає $(0,265/0,467)^{1,06} = 0,55$ (1)
- екамулінове відношення складає $0,350/0,348 = 1,0$ (2).

Відповідно, індекс накопичення ФНФП становитиме $1/0,55=1,8$, що свідчить про накопичення ФНФП.

Також встановлено, що цей індекс корелює з іншими показниками системи гемостазу. Так, в 70% випадків високий вміст РФМК асоціювався зі збільшенням індексу накопичення ФНФП, а в 44% випадків присутність ФНФП виявлялась у осіб зі зниженням рівню фізіологічного інгібітору зсідання крові протеїну С.

Анцистроновий час (аналог рептилазного). Анцистрон - тромбіноподібний фермент, який на відміну від тромбіну не інгібується антитромбіном та гепарином, не активує фактор XIII, не викликає ретракцію згустків. В даному тесті ми використовували анцистрон-Н, виділений з отрути Щитомордника звичайного - *Agkistrodon halys halys*.

При проведенні гепаринотерапії час зсідання плазми крові в тесті тромбіновий час значно подовжується, тоді як в тесті анцистроновий час цього не спостерігається. Співставлення результатів тестів тромбіновий час та анцистроновий час дозволяє охарактеризувати чутливість плазми крові до гепарину. Також проведення цього тесту є доцільним для виявлення тромбофілічного стану, оскільки він тісно корелює з вмістом РФМК. Це було виявлено при комплексному аналізі порушень системи гемостазу в плазмі крові хворих з інфарктом міокарду, ТЕЛА, опіками. Накопичення РФМК супроводжувалось значним скороченням анцистронового часу ($r=-0,75$). Перевірка виявлених закономірностей в модельних системах, до складу яких входили донорська плазма крові та екзогенний фібрин-мономер, підтвердила

наявність залежності між вмістом розчинного фібрину та скороченням часу зсідання плазми крові в тесті анцистроновий час.

Контрольний час в тесті - 30 с за умов коливання рівня фібриногену в межах нормальних показників (2,2-3,2 г/л). Зниження або підвищення рівня фібриногену приводить до значного подовження анцистронового часу. В таких випадках необхідно провести тест повторно з розведеною плазмою. Якщо анцистроновий час повертається до норми при розведенні плазми в 2 рази, то це є свідченням гіперфібриногенемії.

D-димери. Це специфічні продукти деградації фібрину, який входив до складу тромба. Вони утворюються під час лізису згустку головним чином під дією плазміну. Концентрація D-димерів в сироватці крові пропорційна активності фібринолізу та кількості лізованого фібрину. Визначення D-димерів проводиться методами ІФА, імунодифузії, турбідиметрії, латекс-аглютинації. В усіх методах використовуються моноклональні антитіла до епітопів D-димерів, які утворюються лише при розщепленні нерозчинного фібрину плазміном. Оскільки фібриноген та розчинний фібрин-мономер не мають цих епітопів, лише D-димери є показником розщеплення фібрину під час фібринолізу. Оскільки D-димери не є стандартизованим аналізом, різні методи показують різні результати (в нормі <0,5 мкг/мл). D-димери можна визначати в плазмі та сироватці крові, а також в сечі.

До тестів, які дозволяють уточнити порушення в системі гемостазу при тромбофіліях і до деякої міри з'ясувати причину цього стану (табл.3) можна віднести визначення активності та вмісту інгібіторів зсідання крові - протеїну С, протеїну S, антитромбіну III, РАПС (резистентності до активованого протеїну С), а також показників системи фібринолізу (ТАП, ПАІ-1).

Таблиця 3

Уточнюючі тести для діагностики тромбофілій

Тести	Характеристика параметрів системи гемостазу
Антитромбін III	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові

Протеїн С	Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Протеїн S	Кофактор протеїну С. Характеристика антикоагулянтного потенціалу плазми крові
Тканинний активатор плазміногену (ТАП)	Характеризує потенціал системи фібринолізу
Інгібітор тканинного активатору плазміногену (ПАІ-1)	Характеризує активність інгібітору активатора плазміногену

Антитромбін III (АТIII). Відноситься до основних первинних фізіологічних антикоагулянтів і є інгібітором тромбіну, а також XIIa, XIa, IXa, VIIa факторів системи зсідання крові. Для визначення активності АТIII найбільш часто використовують метод, заснований на здатності плазми ін активувати екзогенний тромбін. Також АТ III визначають імунохімічними методами та тестами з хромогенними субстратами.

За рівнем зниження активності екзогенного тромбіну у % від норми оцінюють антитромбінову активність плазми крові. Нормальний рівень активності АТIII у дорослих становить 75-125% (цей діапазон співпадає в різних тест-наборах). За З.С.Баркаганом (1991) розрізняють такі ступені дефіциту АТIII: вкрай важкий - АТIII біля 5% (летальні тромбоемболії та інфаркти в перші роки життя), важкий - АТIII до 40% (часті спонтанні тромбози), помірний – АТIII 41-65% (спонтанні тромбози рідкі, але легко виникають при наявності провокуючих факторів), потенційний - АТIII 66-85% (схильність до розвитку тромбозів в ситуаціях ризику). Дефіцит АТIII може бути спадковим та набути (підвищення споживання при тромбозах). Ми спостерігали формування помірної дефіциту АТ III у хворих з опіковою травмою (57,2±12,8%), гострим інфарктом міокарду (71,5±8,5%), у хворих з поліморфізмом по МТГФР та ГГЦ (74,6±6,5%).

Протеїн С. Для визначення протеїну С використовують імунохімічні методи, метод з хромогенним субстратом та коагуляційний варіант. Для функціональних методів використовують специфічні активатори протеїна С, виділені з отрути змій (зокрема, з отрути щитомордника). В нормі активність

протеїну С у дорослих становить 70-140%. Вміст протеїну С в плазмі крові 65-70% розцінюється як дефіцит і проявляється зростанням схильності до тромбозів.

Оскільки коагуляційний метод не дозволяє точно визначити активність протеїну С за умов накопичення інгібіторів зсідання крові або при дефіциті факторів коагуляції, то в таких випадках використовують методи з хромогенними субстратами (табл.4). Швидкість розщеплення хромогену під дією активованого протеїну С визначається спектрофотометрично за кількістю вивільненого пара-нітроаніліну.

Таблиця 4

Аналіз результатів, одержаних при визначенні активності протеїну С в коагуляційному тесті

Результат хронометричного коагуляційного тесту	Трактування результату
Час зсідання плазми крові пацієнта відповідає часу зсідання плазми крові донорів	Варіант норми - вміст/активність протеїну С 100%
Час зсідання плазми крові пацієнта значно менше часу зсідання плазми крові донорів	Можливий дефіцит протеїну С або протеїну S, РАПС, мутація Лейден фактору V. Необхідно визначити вміст/активність протеїну С методом з хромогенним субстратом.
Час зсідання плазми крові пацієнта значно більше часу зсідання плазми крові донорів	Наявність інгібіторів зсідання крові або дефіцит факторів коагуляції. Необхідно проводити корекційно-інгібіторну пробу тесту АЧТЧ. Якщо додавання 50% плазми крові донорів не коригує подовження часу зсідання плазми, то це вказує на присутність інгібіторів зсідання крові. Якщо час зсідання нормалізується, то це вказує на дефіцит факторів коагуляції. Вміст/активність протеїну С необхідно визначити за хромогенний субстратом
Час утворення згустку не фіксується (згусток не утворюється)	Можливі наявність інгібіторів зсідання крові, функціонально неактивного протеїну С та/або дефіцит факторів коагуляції. Необхідно провести комплексний аналіз стану системи зсідання крові. Визначення активності протеїну С необхідно проводити з використанням хромогенного субстрату

Антикоагулянтна активність протеїну С, що пов'язана з протеолізом та інактивацією активованих факторів VIIIa та Va, розглядається останнім часом як один з основних фізіологічних бар'єрів тромбозу. У зв'язку з цим визначення резистентності фактору Va до активованого протеїну С (РАПС) – один з найперших підходів при виявленні індивідуального ризику тромбозу. Найбільш поширена причина РАПС – це мутація гена фактора V (фактор Лейден). Виявити фактор V Лейден дозволяє тест на РАПС з плазмою пацієнта, розбавленою 1:5 плазмою з дефіцитом фактору V. Цей тест має високу специфічність та чутливість щодо виявлення фактора V Лейден.

Тест на РАПС виконується з використанням специфічних активаторів протеїну С, виділених зі зміїних отрут. При додаванні активатора протеїну С до суміші нормальної та дефіцитної по фактору V плазми час зсідання в тесті АЧТЧ збільшується приблизно вдвічі. При РАПС збільшення АЧТЧ є значно меншим. Паралельне використання тесту АЧТЧ та тесту з хромогенним субстратом дає змогу виявляти порушення взаємодії між фактором Va зсідання крові, протеїном С та протеїном S на фосфоліпідній мембрані, тим самим надаючи інформацію про стан коагуляційного каскаду внутрішнього шляху зсідання крові.

Зниження вмісту протеїну С спостерігалось у хворих з гострим інфарктом міокарду ($65,3 \pm 4,9\%$), у хворих з опіковою травмою ($58,6 \pm 2,4\%$), у хворих з рецидивами венозних тромбозів та ГГЦ ($67,5 \pm 4,8\%$).

Протеїн S - вітамін-К-залежний білок, кофактор активованого протеїну С (АПС). Для визначення протеїну S використовують коагуляційний та імунохімічний методи. Принцип коагуляційного методу полягає в тому, що досліджувану плазму змішують з плазмою, дефіцитною за протеїном S. Після додавання активованого протеїну С та очищеного фактору Va визначають час зсідання крові в тесті АЧТВ. Збільшення часу зсідання крові пропорційно активності протеїну S.

ТАП (тканинний активатор плазміногену). ТАП вивільняється в кровоток з ендотеліальних клітин, де він синтезується. Активність ТАП

можна визначати за його здатністю в присутності стимулятора перетворювати плазміноген в плазмін, який далі буде розщеплювати хромогенний субстрат з вивільненням паранітроаніліду. В нормі активність ТАП складає 2,05 МЕ/мл, зниження його активності є предиктором тромбозів. Імунохімічні методи визначення ТАП дають інформацію про його кількість, але не характеризують активність (що є більш важливим).

Діагностика дефіциту ТАП полягає також в оцінці його здатності вивільнятись з судинної стінки при стресовому впливі. Для цього проводять пробу з дозованим стисканням вен манжеткою або джгутом на 10-15 хвилин і порівнюють вміст та активність ТАП до та після манжетової проби.

ПАІ-1 (інгібітор активатора плазміногену першого типу) – є основним інгібітором урокінази та ТАП. Підвищення ПАІ-1 є однією з причин рецидивних венозних тромбозів. Визначення ПАІ-1 проводять імунохімічними та функціональними методами. Оскільки вміст ПАІ-1 в плазмі крові підлягає циркадним коливанням, забір крові для дослідження необхідно проводити зранку в один і той же час. Визначення ПАІ-1 відбувається в декілька етапів – спочатку проводять інактивацію інгібіторів плазміну $\alpha 2$ -антиплазміну та $\alpha 2$ -макроглобуліну, а потім визначають залишкову активність доданого в надлишку плазміну.

Лабораторні тести для виявлення причини тромбофілії

Молекулярно-генетичні тести. В останні роки були розгорнуті широкомасштабні дослідження генетично-обумовлених дефектів гемостазу як причин рецидивуючих тромбозів та тромбоемболій і з'ясувалось, що серед великого спектру спадкових факторів ризику тромбофілії найбільш вагомими є Лейденська мутація по фактору V зсідання крові, мутація по гену протромбіну G20210A та поліморфізм по метилентетрагідрофолатредуктазі (МТГФР) – ферменту обміну гомоцистеїну.

Лейденська мутація фактору V. Фактор V – глікопротеїн плазми крові, який прискорює перетворення протромбіну в тромбін під дією протеїнази фактору Ха при наявності фосфоліпідів та Ca^{2+} .

Точкова мутація гена фактору V в 1691 положенні (G1691A) приводить до заміни аргініну на глютамін в 506 положенні в білку, що обумовлює його резистентність до дії інгібітору зсідання крові активованого протеїну C. При цьому активований протеїн C не здатний інактивувати фактори V та VIII, що викликає підвищення рівня тромбіну та розвиток тромбофілічного стану. Лейденська мутація успадковується за аутосомно-домінантним типом і її частота коливається від 1 до 14% в різних популяціях. Серед осіб з тромбозами виявляється до 40% носів цієї мутації. Резистентність до активованого протеїну C формується у 90% осіб з лейденською мутацією. Мутація асоціюється з підвищеним ризиком венозних тромбозів (в 5-10 разів у гетерозигот та в 50-80 разів у гомозигот) та інфаркту міокарду. Нещодавно відкриті нові точкові мутації гену фактору V - в положенні 306 заміна аргініну на треонін (форма Кембрідж) або гліцин (форма Hong-Kong).

Мутація гену протромбіну G20210A. Заміна гуаніну на аденін в положенні 20210 в некодуючій 3'-термінальній ділянці гену протромбіну приводить до зростання вмісту протромбіну в крові, що зумовлює збільшення ризику тромбозів в 3-5 разів. Успадкування мутації відбувається за аутосомно-домінантним типом, а її частота в європейській популяції складає 1-4% і у осіб з тромбозами зростає до 20%. Мутація асоціюється з підвищеним ризиком (в 3-5 рази) тромбозів глибоких вен, інфаркту міокарду, інсультів.

Поліморфізм по МТГФР. Найбільш частою мутацією гену МТГФР є заміна цитозину та тимін в 677 положенні (C677T), що приводить до заміни в білку валіну на аланін в 222 положенні. Наслідком цієї мутації є поява термолабільної МТГФР зі зниженою (на 35-50%) каталітичною активністю, що спричиняє порушення обміну гомоцистеїну та розвиток гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ). Успадкування відбувається за аутосомно-рецесивним типом, а поширеність цієї мутації в європейській популяції є достатньо високою - до 10-13% гомозигот (T/T) та до 50% гетерозигот (C/T).

Вважається, що ця мутація асоціюється з підвищенням ризику артеріальних та венозних тромбозів (в 2-3 рази) при розвитку гіпергомоцистеїнемії. Існують і менш поширені варіанти точкових мутацій по МТГФР (A1298C чи A1793G), які також причетні до розвитку гіпергомоцистеїнемії.

Гіпергомоцистеїнемія. Гомоцистеїн – це замінна амінокислота, яка містить сірку у вигляді вільної сульфгідрильної групи. В організм людини гомоцистеїн із їжею не надходить, а з'являється як проміжний метаболіт в процесі перетворення метіоніну (незамінної амінокислоти, яка надходить із їжею) в цистеїн. Основним місцем утворення гомоцистеїну вважається печінка, в значно менших кількостях він також синтезується у лімфоцитах, фібробластах, ендотеліальних клітинах. Менш ніж 0,05% усього синтезованого гомоцистеїну екскретується у незмінному вигляді із сечею, решта – катаболізується в процесі тубулярної реабсорбції у тканині нирок.

Підвищення вмісту гомоцистеїну в плазмі крові є наслідком порушення рівноваги між його продукцією та метаболізмом. Причини виникнення ГГЦ можна поділити на дві групи: вроджені дефекти гомоцистеїнметаболізуючих ферментів (МТГФР, цистатіонін-β-синтетази та цистатіонін-γ-ліази) та набуті вади, що виникають внаслідок дефектів харчування (аліментарний дефіцит вітамінів В₂, В₆, В₁₂ та В₉, надлишок метіоніну), вікових порушень, шкідливих звичок (паління, зловживання кавою, алкоголь) та деяких захворювань (діабет, ниркова недостатність), прийомі певних лікарських препаратів (метотрексату, ізоніазиду та ін.), а іноді – з нез'ясованих причин.

ГГЦ тривалий час протікає безсимптомно і проявляється раннім розвитком коронарної хвороби серця, тромбозів, інсультів. Підвищення на 5 мкмоль/л рівня ГЦ в крові збільшує ризик коронарної хвороби серця на 60-80%. Ризик тромбозів при ГГЦ зростає в 3-5 разів. Нормальним вважається гомоцистеїну ГЦ до 10 мкмоль/л, субнормальним - рівень 10-15 мкмоль/л, високим – більше 15 мкмоль/л. Розрізняють легку ГГЦ – рівень гомоцистеїну

15-30 мкмоль/л; середню ГГЦ – 31-100 мкмоль/л; тяжку ГГЦ – більше 100 мкмоль/л.

Висока поширеність зазначених вище мутацій та ГГЦ в популяції приводить до накопичення значної частки осіб з одночасним носійством кількох порушень (наприклад, мутації по фактору V Лейден та протромбіну чи по МТГФР), що істотно збільшує ризик тромбозів для таких індивідуумів.

За результатами наших досліджень, в групі здорових мешканців Подільського регіону поширеність Лейденської мутації складає 2,9%, поліморфізм по протромбіну G20210A - 1,5% та МТГФР C677T – 40% (10% гомозигот) без чіткого превалювання серед чоловіків та жінок. В групі хворих з венозними тромбозами відбувається накопичення мутацій по фактору V Лейден, протромбіну G20210A та МТГФР. Характерною відмінністю групи хворих з венозними тромбозами від контрольної групи є поява носіїв з комбінованими генетичними порушеннями (8%), при цьому найбільш часто поєднується лейденська мутація та поліморфізм по МТГФР. Поширеність ГГЦ у хворих з венозними тромбозами становить біля 30%, порівняно з 10% у здорових осіб.

Антифосфоліпідні антитіла (АФА). Оскільки однією з причин спонтанного тромбоутворення є антифосфоліпідний синдром (первинний або набутий), визначення АФА входить до програми скринінгу на тромбофілію.

АФА відносяться до імуноглобулінів класів IgG та IgM, рідше IgA. Визначають аутоантитіла до кардіоліпіну, фосфатидилсерину, β 2-глікопротеїну I (табл.5), причому антитіла проти β 2-глікопротеїну I є більш специфічними, ніж антитіла до фосфоліпідів. Лабораторним підтвердженням антифосфоліпідного синдрому є виявлення високого вмісту АФА в сироватці крові як мінімум 2 рази з інтервалом не менш, ніж 6 тижнів. Позитивним вважається результат, коли вміст АФА в 2 рази (і більше) вище норми (АФА завжди присутні в сироватці здорових осіб в низькому титрі).

Таблиця 5

Спектр антифосфоліпідних антитіл, які виявляють в сироватці крові хворих з антифосфоліпідними синдромом

Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою ІФА, де в якості антигену використовується кардіоліпін	Кардіоліпінові АТ
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до інших фосфоліпідів'язуючих білків
Антифосфоліпідні АТ, які виявляються за допомогою фосфоліпід-залежних коагуляційних тестів (вовчаків антикоагулянт)	АТ до протромбіну
	АТ до β_2 -глікопротеїну I
	АТ до фактору V
	АТ до фактору X
	АТ до фосфоліпідів

ІІІ. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ГІПЕРРЕАКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ ЯК ФАКТОРА РИЗИКУ ТРОМБОФІЛІЇ ТА ТРОМБОЗІВ

В останні роки значна увага у формуванні набутих змін судинно-тромбоцитарного гемостазу приділяється метаболічним (ГГЦ) та генетично-детермінованим чинникам гіперреактивності тромбоцитів. Формування феномену гіперреактивності тромбоцитів, який тривалий час залишається безсимптомним і може бути виявлений лише при детальному дослідженні їх агрегаційних властивостей, починається задовго до судинних катастроф. Гіперреактивність тромбоцитів пов'язують значною мірою з генетичними чинниками, зокрема з поліморфізмом поверхневих рецепторів тромбоцитів. Існує думка, що гіперреактивність тромбоцитів також асоціюється з жіночою статтю та віковим підвищенням концентрації фібриногену в плазмі крові, запальними синдромом. Існують дані, що гіперагрегація тромбоцитів у хворих з атеросклеротичним ураженням периферійних судин корелює з високими рівнями фібриногену та продуктів деградації фібрину в плазмі крові.

Лабораторна діагностика гіперреактивності тромбоцитів потребує оцінки агрегаційної відповіді тромбоцитів на дію індукторів агрегації в низьких та звичайних концентраціях (ADP, адреналіну та колагену).

Забір крові для дослідження агрегації тромбоцитів проводиться натщесерце з 8 до 9 годин ранку з ліктьової вени широкою голкою (внутрішній діаметр 1,0 - 0,8 - 0,6 мм) в пластикову (або скляну сіліконовану) пробірку з 3,8% розчином лимоннокислого натрію у співвідношенні 9:1. При заборі крові слід уникати тривалого венозного стазу (більше 3 хвилин) та використання шприців, найкраще застосовувати вакутейнери з розчином цитрату натрію. Перед забором крові пацієнту слід утримуватись від вживання напоїв з кофеїном, паління, фізичного навантаження. За тиждень перед проведенням дослідження потрібно виключити прийом препаратів, що впливають на агрегацію тромбоцитів (зокрема, аспірин та інші НПЗП).

Збагачену тромбоцитами плазму (ПЗТ) отримують центрифугуванням стабілізованої крові при 300 g упродовж 5 хв. при 18-22°C. Бідну тромбоцитами плазму (ПБТ) отримують центрифугуванням ПЗТ при 1500 g упродовж 20 хв. В ПЗТ визначається кількість тромбоцитів і при необхідності вона розводиться ПБТ до концентрації 250 000 клітин в 1 мкл. Агрегатометрія виконується в перші три години після забору крові на агрегометрі з використанням трьох індукторів агрегації: аденозиндифосфату (АДФ) (в кінцевих концентраціях 0,625 та 2,5 мкМ), адреналіну (2,5 мкМ) та колагену (0,2 -2 мг/мл згідно до рекомендацій фірми-виробника).

Стан гіперреактивності тромбоцитів діагностується за умов появи незворотної агрегації у відповідь на 0,625 мкМ АДФ та при збільшенні ступеню агрегації вище 75-80% у відповідь на 2,5 мкМ АДФ або адреналіну, вкороченні лаг-періоду колаген-ідукованої агрегації тромбоцитів (до 30 с та менше).

Нами було проведено дослідження агрегаційної функції тромбоцитів та частоти їх гіперреактивності у 56 хворих з післятромбофлебітичним синдромом та у 52 хворих з атеросклеротичним ураженням судин нижніх кінцівок (ОА СНК). Дослідження виконані на фотооптичному агрегометрі AP2110 “Солар” (Білорусь). Контрольну групу склали 47 практично здорових осіб. Групи були рандомізовані за віком та статтю. До дослідження залучались особи, які не отримували гепарину, аспірину та нестероїдних протизапальних препаратів упродовж останніх 7 днів.

Для оцінки процесу агрегації тромбоцитів використовували АДФ та адреналін в кінцевих концентраціях 2,5 мкМ, для виявлення гіперагрегації тромбоцитів – АДФ в концентрації 0,625 мкМ. Колаген використовувався в кінцевій концентрації 2 мг/мл. (Використані індуктори агрегації фірми “Технологія-Стандарт”, Росія). Реєстрували: ступінь агрегації (%) – максимальний рівень світлопропускання плазми після внесення індуктора агрегації; швидкість агрегації (%/хв.) – зміна світлопропускання плазми після внесення індуктора агрегації за перші 30 с; час агрегації (с) – час досягнення максимального ступеню агрегації.

При додаванні індуктора агрегації до ПЗТ спочатку відбувається зміна форми тромбоцитів (з дискоїдної на сферичну), з’являються псевдоподії і відбувається первинна зворотна агрегація (перша фаза агрегації), а потім за рахунок секреції власних біологічно-активних речовин тромбоцитів виникає друга незворотна фаза агрегації.

При додаванні АДФ в низьких концентраціях (0,625 мкмоль/л) процес агрегації тромбоцитів завершується на першій фазі і є повністю зворотним. При більш високих концентраціях АДФ викликає незворотну агрегацію, яка виглядає на агрегатограмі як двохфазна або однофазна крива. Однофазна незворотна агрегація свідчить про більш бурхливу агрегацію тромбоцитів, коли друга фаза практично нашаровується на першу.

Адреналін-індукована агрегація є незворотною, незалежно від концентрації індуктора, і має вигляд двохфазної кривої. Колаген-індукована агрегація має тривалий лаг-період (прихована активація тромбоцитів), тому агрегатограма починається з практично прямої лінії, потім відбувається друга незворотна фаза агрегації, яка має вигляд однофазної кривої.

Як свідчать результати наших досліджень, АДФ в концентрації 2,5 мкмоль/л у 57% здорових осіб викликав однофазну незворотну агрегацію, у 32% - двохфазну незворотну агрегацію та у 11% - зворотну агрегацію. АДФ в низькій концентрації (0,625 мкмоль/л) викликав зворотну агрегацію у 89% здорових осіб, у 11% не викликав агрегації тромбоцитів. Адреналін у 100% здорових осіб викликав двохфазну незворотну агрегацію тромбоцитів. Для колаген-індукованої агрегації була характерна лаг-фаза, тривалість якої коливалась в межах 40-90 сек.

Нами були виявлені істотні відмінності між хворими з ураженнями судин та здоровими особами за характером агрегатограм, отриманих у відповідь на різні індуктори. Виявилось, що АДФ в концентрації 2,5 мкмоль/л частіше викликав однофазну незворотну агрегацію у хворих з ПТФС та у хворих з ОА СНК з більш високим ступенем агрегації, ніж в контролі (рис.1).

Відсоток осіб зі зворотною агрегацією у відповідь на 2,5 мкмоль/л АДФ серед хворих на ОА СНК був практично вдвічі нижчим, ніж серед здорових осіб. У 9% хворих з ПТФС та у 11,5% хворих з ОАСНК низькі концентрації АДФ (0,625 мкмоль/л) викликали двохфазну незворотну агрегацію (рис. 2), що є ознакою гіперагрегації та гіперреактивності тромбоцитів.

Характер адреналін-індукованої агрегації у 18% хворих з ПТФС та у 15% хворих з ОА СНК змінювався з класичної двохфазної кривої на однофазну, що свідчить про гіперреактивність тромбоцитів (рис.3). Щодо колаген-індукованої агрегації у частини хворих з ПТФС чи ОАСНК спостерігалось скорочення лаг-фази (рис.4).

Детальний аналіз агрегатограм показав, що найбільш істотні відмінності між пацієнтами контрольної групи та хворими з ураженнями судин виявлялись при використанні АДФ в концентрації 2,5 мкМ та колагену в концентрації 2 мг/мл, і меншими вони були при використанні адреналіну в концентрації 2,5 мкМ (табл. 6, 7).

Таким чином проведені нами дослідження продемонстрували значну поширеність порушень агрегаційної функції тромбоцитів у хворих з ураженнями периферійних судин, причому як артеріальної, так і венозної системи. Результати наших досліджень свідчать про значну поширеність гіперреактивності тромбоцитів серед хворих з ПТФС та ОА СНК. Ми вважаємо, що поряд з пошкодженнями ендотелію, порушення в тромбоцитарній ланці гемостазу можуть відігравати суттєву роль в формуванні тромбофілічного синдрому. На нашу думку, дослідження агрегації тромбоцитів має стати обов'язковим елементом лабораторного обстеження такого контингенту хворих, а пацієнти з гіперагрегацією тромбоцитів потребують обов'язкового призначення антиагрегантів.

Таблиця 6

Частота гіперреактивності тромбоцитів серед здорових осіб та хворих з ураженнями судин

Індуктор агрегації	Хворі з гіперреактивністю тромбоцитів		
	Контроль (n=47)	ПТФС (n=56)	ОАСНК (n=52)
АДФ, 2,5 мкМ	5 (10,6%)	23 (41,0%)*	25 (48,0%)*
Адреналін, 2,5 мкМ	4 (9,7%)	16 (28,5%)*	12 (23,0%)*
Колаген, 2 мг/л	5 (10,6%)	17 (30,3%)*	15 (28,8%)*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно контролю

Кількісні параметри агрегатограм у здорових осіб та у хворих з ураженнями судин (M±m)

Група	Параметри агрегатограми			
	Ступінь агрегації, %	Швидкість, % за хв	Час, сек	Лаг-фаза, с
Індуктор агрегації - ADP 2,5 мкМ				
Контроль (n=47)	53,3±1,51	37,3±1,46	381,6±16,9	-
Хворі з ПТФС (n=56)	59,7±2,27*	41,4±1,86	346,2±17,4	
Хворі на ОА СНК (n=52)	61,4±2,37*	42,1±1,92	356,1±15,7	-
Індуктор агрегації - адреналін 2,5 мкМ				
Контроль (n=47)	75,8±2,33	21,4±1,41	481,0±11,0	-
Хворі з ПТФС (n=56)	81,2±2,24*	22,5±1,36	468,5±13,6	
Хворі на ОА СНК (n=52)	79,6±2,31	20,1±1,37	458,5±14,3	-
Індуктор агрегації - колаген 2 мг/мл				
Контроль (n=47)	81,3±1,41	44,8±0,93	407,2±9,8	49,8±2,03
Хворі з ПТФС (n=56)	87,5±1,36*	43,2±1,51	436,8±10,1*	34,8±1,78*
Хворі на ОА СНК (n=52)	86,9±1,35*	44,2±1,45	437,3±9,9*	32,9±1,86*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно контролю.

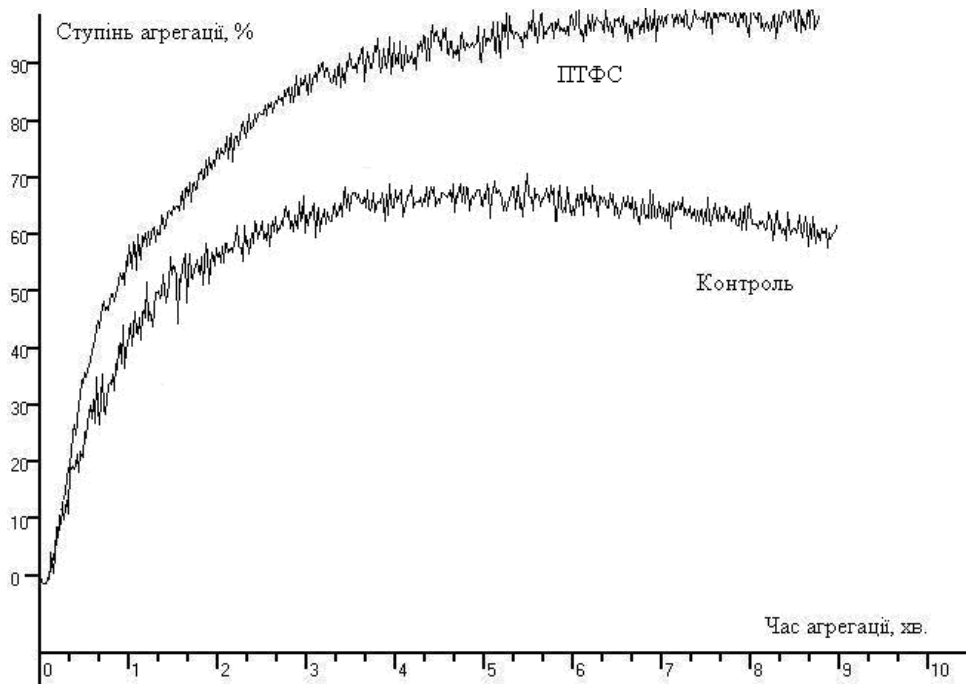


Рис.1. Агрегатограма пацієнта з ПТФС у порівнянні з контролем. Індуктор агрегації – АДФ (концентрація 2,5 мкМ).

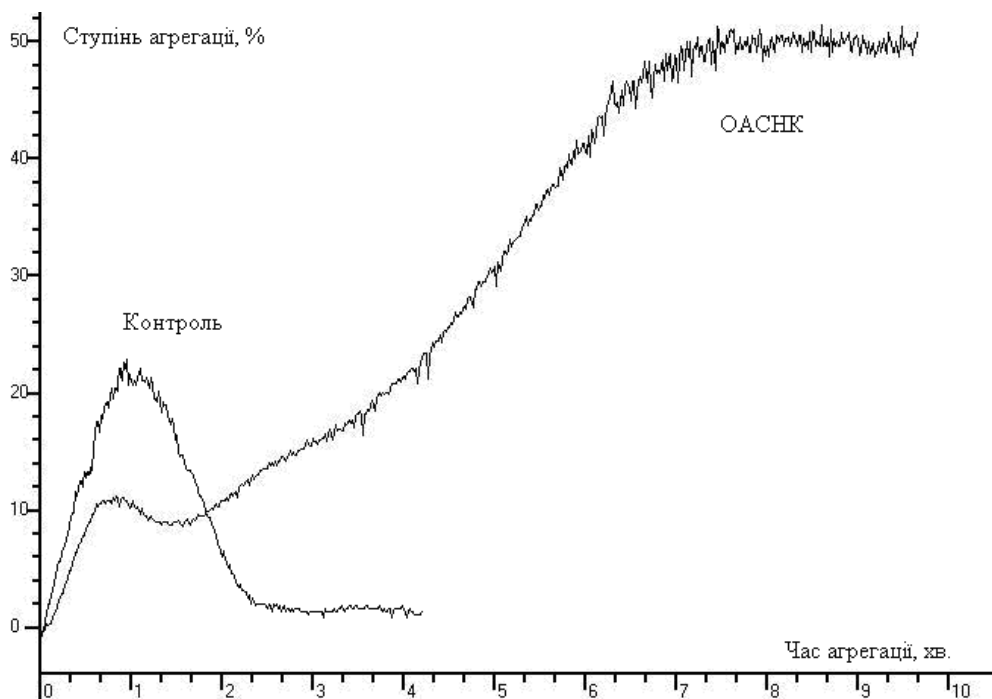


Рис.2. Агрегатограма пацієнта з ОАСНК порівняно з контролем. Індуктор агрегації - АДФ (концентрація 0,625 мкМ).

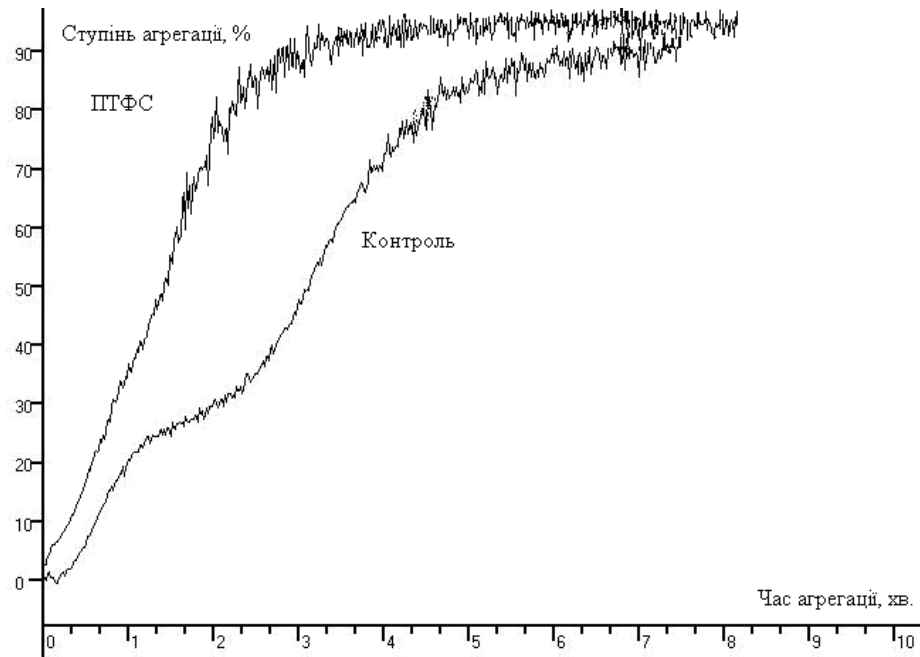


Рис.3. Агрегатограма пацієнта з ПТФС (однофазна) у порівнянні з контролем (двухфазна). Індуктор агрегації - адреналін (в концентрації 2,5 мкМ).

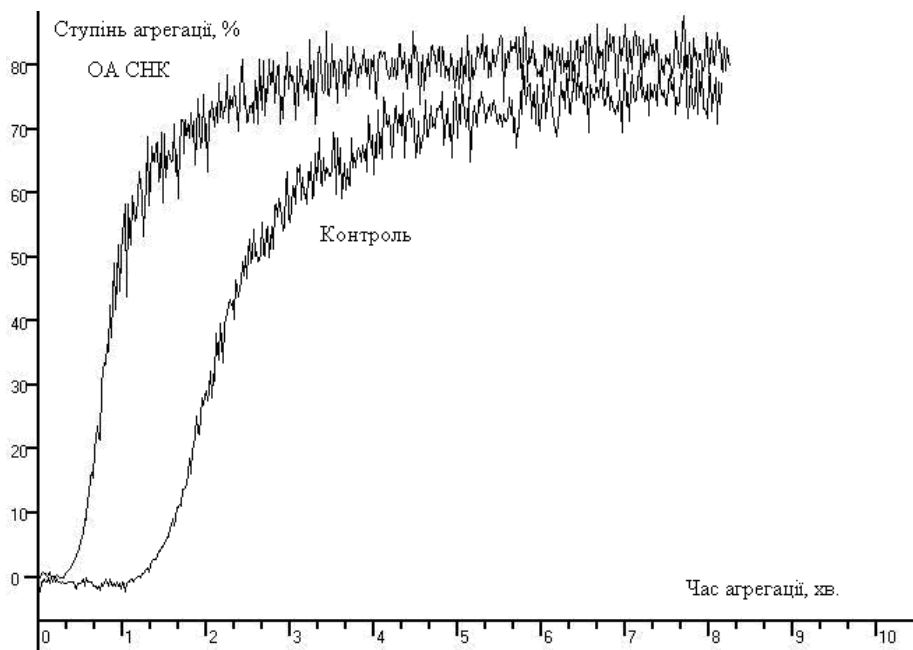


Рис.4. Агрегатограма пацієнта з ОАСНК (скорочення лаг-фази) у порівнянні з контролем (двухфазна). Індуктор агрегації – колаген адреналін (в концентрації 2 мг/л).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бариева Г. А. Что привнес агрегометр в диагностические возможности КДЛ / Г. А. Бариева, В. А. Горбачева, Г. Б. Макарова, К. А. Щетникович // Лаборатория. – 2000. – №4. – С.12-13.
2. Бокарев И. Н. Тромбофилии, венозные тромбозы и их лечение / И. Н. Бокарев, М. И. Бокарев // Клиническая медицина. – 2002. – №5. – С.5-8.
3. Вавилова Т. В. Антитромботическая терапия и методы ее лабораторного контроля / Т. В. Вавилова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – №12. – С.21-32.
4. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирин. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. – 227 с.
5. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
6. Исследование системы крови в клинической практике / под ред. Г. И. Козинца, В. А. Макарова. – Москва : Триада-Х, 1997. – 480 с.
7. Пентюк О. О. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, І. І. Андрушко, К.П. Постовітенко // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т.75, №1. – С.5-17.
8. Пентюк О. О. Патогенетичні аспекти гіпергомоцистеїнемії та перспективи створення лікарських засобів для лікування патології, асоційованої з порушеннями обміну гомоцистеїну / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, Н. В. Заїчко [та ін.] // Biomedical and biosocial Anthropology. – 2008. – №10. – С.297-303.
9. Современные представления о системе гемостаза / [Волков Г. Л., Платонова Т. Н., Савчук А. Н. та ін.]. – Киев : Наукова думка, 2005. - 292 с.
10. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови / Шиффман Ф. Дж., пер. с англ. Е. Б. Жибурга, Ю. Н. Токарева. – Москва : Издательство БИНОМ, 2007. – 448 с.