

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ГЕМОФИЛИИ

*Игорь Леонидович Давыдкин¹, Юлия Анатольевна Косякова¹,
Оксана Анатольевна Гусякова², Инна Александровна Зубова², Татьяна Юрьевна Евсеева²*

¹Кафедра госпитальной терапии с курсом трансфузиологии (зав. — проф. И.Л. Давыдкин),

*² кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой
(зав. — проф. Ф.Н. Гильмиярова), ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»
Росздрава*

Реферат

Изучены особенности реакции системы гемостаза при развитии кровотечений у 142 больных гемофилией и факторы, влияющие на агрегационную способность тромбоцитов. Транзиторные нарушения агрегационной способности тромбоцитов выявлены в 45% случаев при стимуляции следующими препаратами: АДФ, коллагеном и универсальным индуктором агрегации на фоне диспротеинемии, повышения уровня сывороточного железа и тимоловой пробы.

Ключевые слова: гемофилия, гемостаз, агрегационная способность тромбоцитов, АДФ, коллаген, универсальный индуктор агрегации.

В мире насчитывается около 400 тысяч больных гемофилией, в России — 7500, в Самарской области — около 200 пациентов с врожденными коагулопатиями. Рецидивы гемартрозов приводят к артропатиям и потере трудоспособности, что определяет социальную значимость этих заболеваний. Актуальны исследования, направленные на прогнозирование кровотечений, выяснение альтернативных механизмов в системе гемостаза, позволяющие компенсировать врожденный дефект. В литературе обсуждается вариабельность течения гемофилии при одинаковой активности дефицитного фактора свертывания крови [1, 2, 4, 6, 7, 8].

Целью данного исследования было выяснение особенностей реакции системы гемостаза при развитии кровотечений и факторов, влияющих на агрегационную способность тромбоцитов у больных гемофилией.

Обследованы больные гемофилией (142 чел.) в возрасте от 18 до 38 лет, госпитализированные по поводу кровотечения или кровоизлияния различной локализации: с гемофилией А (124) и В (18). Легкая форма заболевания диагностирована у 23% больных, средней степени — у 21%,

тяжелая — у 56%. В контрольную группу вошли 75 клинически здоровых мужчин аналогичного возраста.

Количество и морфологические характеристики клеток крови определяли на автоматическом анализаторе «Sysmex KX-21» фирмы «Roche». Функциональные возможности тромбоцитов оценивали методом визуальной детекции времени начала агрегации с различными индукторами (АДФ, коллаген, универсальный индуктор агрегации — УИА), разработанным «Технология-Стандарт». Уровень факторов VIII и IX свертывания крови, активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), тромбинового времени, содержание антитромбина III исследовали на коагулометре «STA-Compact» фирмы «Roche». Содержание фибриногена, общего белка, мочевины, креатинина, билирубина, железа, активности аланин- и аспартатаминотрансферазы определяли на биохимических анализаторах «Hitachi-902», «Интегра 800» фирмы «Roche». Для проведения тимоловой пробы использовали набор реактивов фирмы «Lachema». Варианты белковых фракций оценивали методом электрофореза на аппарате «Астра». Статистический анализ был выполнен методами вариационной статистики и корреляционного анализа с помощью пакета компьютерных программ SPSS 11.5.

У больных гемофилией А и В наблюдалось статистически достоверное удлинение АПТВ на 73% ($p = 0,001$) и 112% ($p = 0,04$) соответственно (табл.1). Мы изучили агрегационную способность тромбоцитов при стимуляции АДФ, коллагеном и УИА. У больных гемофилией А время агрегации тромбоцитов с АДФ оказалось достоверно повышенным ($p=0,045$). Аналогичные тенденции обнаружились при

Таблица 1

Показатели системы гемостаза у больных гемофилией (M±m)

Показатели	Контроль (n=75)	Гемофилия А (n=124)	Гемофилия В (n=18)
Количество тромбоцитов, $\times 10^9$	245,4±11,7	292±7,51	245,0±10,7
Ширина распределения тромбоцитов по объему, фл	13,9±0,41	12,67 ± 0,15	13,3±0,6
Средний объем тромбоцитов, фл	10,6±0,18	9,68 ± 0,06	9,94 ± 0,19
Соотношение крупных тромбоцитов, %	30,4±1,32	23,6 ± 0,47	26,0 ± 1,56
Активированное парциальное тромбопластиновое время, с	37,6 ± 3,4	70,3 ± 2,7*	66,8 ± 9,6**
Протромбиновый индекс, %	91,3±9,0	72,4 ± 0,73	96,3 ± 3,3
Тромбиновое время, с	18,1±1,13	17,5±0,29	17,0±0,3
Антитромбин III, %	110,0±9,35	98,5±4,25	83,0±8,0
Концентрация фибриногена, г/л	3,4±1,17	3,8 ± 0,36	2,8 ± 0,1
Время агрегации тромбоцитов с АДФ, с	13,7±1,21	17,6 ± 1,28***	16,9 ± 4,2
Время агрегации тромбоцитов с коллагеном, с	15,9±1,31	17,2 ± 1,27	15,7 ± 6,1
Время агрегации тромбоцитов с УИА, с	15,7±1,21	17,9 ± 1,03	21,5 ± 3,5

Примечание: * $p = 0,001$ *, ** $p = 0,04$, *** $p = 0,045$ — по сравнению с контролем; фл — единица объема тромбоцита (фемтолитр = 10^{-15} л).

исследовании времени агрегации тромбоцитов с УИА. Удлинение времени стимулированной агрегации тромбоцитов отмечено в 45% случаев госпитализаций пациентов по поводу кровотечений. Динамическое наблюдение показало, что у одного и того же больного при сходных клинических проявлениях кровотечений в одних случаях время агрегации было нормальным, в других — увеличенным. Следовательно, нарушения агрегационной способности тромбоцитов при гемофилии имеют приобретенный и транзиторный характер.

Для выяснения факторов, влияющих на функциональные способности тромбоцитов, мы провели сравнительный анализ клинических данных, показателей клеточного состава крови, метаболизма, системы гемостаза (табл. 2) в двух группах пациентов: 1-я (51 чел.) — с нормальной агрегационной способностью тромбоцитов, 2-я (42) — с нарушенной агрегацией тромбоцитов. Возраст пациентов в обеих группах был одинаковым (29,1±2,3 и 30,4±2,2 года). Во 2-й группе заболевание протекало тяжелее, и больные продолжительнее находились в стационаре: 10,0±1,28 и 13,23±1,52 дня ($p=0,08$). Основными причинами госпитализации пациентов 1-й группы были гемартрозы (35%), гематомы (11,7%), кровотечения иной локализации (40,9%). У больных 2-й группы гемартрозы отмечались чаще (69%), гематомы —

реже (7,7%), кровотечений не было. Среди пациентов с нарушенной агрегационной способностью тромбоцитов чаще встречались лица с В (III) группой крови (35%), с 0 (I) и А(II) — по 28%, с АВ (IV) — 7,1%. У пациентов с нормальной агрегационной активностью тромбоцитов доля носителей В (III) группы крови была меньшей (17,6%), с 0 (I) и А(II) — по 41,1%, больных с АВ (IV) группой крови не было.

Характеристики эритроцитов и лейкоцитов в обеих группах практически не отличались. При нарушении функциональной способности тромбоцитов отмечалось увеличение числа ретикулоцитов (+81%, $p = 0,035$). Значение гематокрита у пациентов с нарушенной функцией тромбоцитов было выше, чем при сохраненной функции (44,65 ± 1,12% и 41,99 ± 1,21% соответственно). В ряде случаев отмечалось снижение гематокрита до 26,6%, но при этом функция тромбоцитов была нормальной. По мнению ряда авторов, агрегационная способность тромбоцитов нарушается вследствие значительной гемодилюции, когда тромбоциты перемещаются с краевой позиции к центру [5]. Наши исследования не дают оснований для подобных выводов.

Во 2-й группе больных гемофилией (с нарушенной функцией тромбоцитов) был достоверно увеличен протромбиновый индекс (+21%, $p = 0,02$), что свидетельствует об усилении внешнего пути активации

Таблица 2.

Показатели крови больных гемофилией с сохранённой (1) и нарушенной (2) агрегационной способностью тромбоцитов ($M \pm m$)

Показатели	Группа 1 (n=51)	Группа 2 (n=42)
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	4,90 $\pm$ 0,12	5,15 $\pm$ 0,11
Гемоглобин, г/л	139,88 $\pm$ 5,08	140,38 $\pm$ 11,35
Гематокрит, %	41,99 $\pm$ 1,21	44,65 $\pm$ 1,12
Средний объем эритроцита, фл	85,75 $\pm$ 1,59	86,78 $\pm$ 1,60
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	28,52 $\pm$ 0,77	29,37 $\pm$ 0,78
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	33,22 $\pm$ 0,39	33,75 $\pm$ 0,36
Ретикулоциты, ‰	7,92 $\pm$ 1,96	14,36 $\pm$ 3,17*
RDW, %	15,02 $\pm$ 0,80	13,58 $\pm$ 0,30
Лейкоциты, $\cdot 10^9/л$	7,45 $\pm$ 0,91	6,64 $\pm$ 0,51
Тромбоциты, $\cdot 10^9/л$	252,71 $\pm$ 14,13	273,38 $\pm$ 25,86
PDW, %	14,04 $\pm$ 0,68	12,44 $\pm$ 0,29
Средний объём тромбоцита, фл	9,94 $\pm$ 0,20	9,74 $\pm$ 0,14
СОЭ, мм/ч	7,85 $\pm$ 1,96	5,00 $\pm$ 0,58
Общий белок, г/л	72,62 $\pm$ 1,43	69,65 $\pm$ 5,52
Альбумины, г/л	36,94 $\pm$ 1,41	37,17 $\pm$ 1,32
α_1 -глобулины, г/л	2,56 $\pm$ 0,40	2,34 $\pm$ 0,43
α_2 -глобулины, г/л	6,37 $\pm$ 0,48	8,77 $\pm$ 0,45
β -глобулины, г/л	9,64 $\pm$ 0,59	11,61 $\pm$ 0,60
γ -глобулины, г/л	14,50 $\pm$ 0,79	15,11 $\pm$ 0,70
Альбумины/глобулины	1,14 $\pm$ 0,06	0,98 $\pm$ 0,05
Билирубин общий, мкмоль/л	13,68 $\pm$ 1,22	14,81 $\pm$ 1,46
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,62 $\pm$ 1,66	4,35 $\pm$ 0,45
АЛАТ, Е/л	69,87 $\pm$ 16,02	46,15 $\pm$ 13,57
АСАТ, Е/л	48,07 $\pm$ 9,61	38,44 $\pm$ 7,54
Мочевина, ммоль/л	5,03 $\pm$ 0,23	5,73 $\pm$ 0,89
Железо, мкмоль/л	15,71 $\pm$ 1,72	21,80 $\pm$ 2,72**
Тимоловая проба, Ед	2,22 $\pm$ 0,33	5,91 $\pm$ 0,96***
Протромбиновый индекс, %	91,33 $\pm$ 4,33	110,33 $\pm$ 3,48****
АПТВ, с	70,66 $\pm$ 6,11	75,00 $\pm$ 6,48
Фибриноген, г/л	3,68 $\pm$ 0,66	2,95 $\pm$ 0,58
Тромбиновое время, с	17,54 $\pm$ 0,59	18,58 $\pm$ 0,72
Антитромбин III, %	94,11 $\pm$ 4,37	74,99 $\pm$ 27,03
Время агрегации тромбоцитов с АДФ, с	12,75 $\pm$ 0,60	23,18 $\pm$ 1,09
Время агрегации тромбоцитов с коллагеном, с	13,37 $\pm$ 0,84	24,71 $\pm$ 0,61
Время агрегации тромбоцитов с УИА, с	14,59 $\pm$ 0,70	22,24 $\pm$ 0,91

Примечание: * $p=0,035$, ** $p=0,050$, *** $p=0,0001$, **** $p=0,030$ — по сравнению с показателями группы с сохранённой агрегационной способностью тромбоцитов.

свертывания крови. Отмечалось повышение показателя тимоловой пробы (+167%, $p=0,001$), увеличение содержания железа (+39%; $p=0,056$), хотя больные препараты железа не получали. Корреляционный анализ выявил существенную связь между показателем тимоловой пробы и временем стимулированной агрегации тромбоцитов: с АДФ ($r=0,56$; $p=0,03$), с коллагеном ($r=0,58$; $p=0,05$) и УИА ($r=0,54$; $p=0,04$).

При анализе суммарных доз вводимых препаратов фактора VIII и фактора IX выяснилось, что пациенты 2-й группы получили меньше иммуната, гемоктина, октаната. На фоне заместительной терапии в 1-й группе уровень фактора VIII более 25% имели 50% больных, тогда как во 2-й — 33%.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что снижение агрегацион-

ной способности тромбоцитов усугубляет состояние гипокоагуляции у больных гемофилией. Нарушение функциональных способностей тромбоцитов может быть спровоцировано освобождением из гемолизированных эритроцитов железом, обладающим, как известно, проокислительными свойствами. В литературе приведены экспериментально обоснованные данные об ингибирующем действии перекисного окисления липидов на тромбоцитарную агрегацию [3]. Изменение состава белков плазмы является еще одним фактором, ухудшающим реализацию тромбоцитами своих функций.

ВЫВОДЫ

1. У больных гемофилией кровотечения и кровоизлияния могут осложняться проходящими нарушениями агрегационной способности тромбоцитов. Увеличение времени стимулированной агрегации тромбоцитов отмечалось у 45% больных.

2. При появлении клинических признаков гемартрозов и гематом у больных гемофилией прогностически неблагоприятно увеличение времени индуцированной агрегации тромбоцитов, содержания железа, показателя тимоловой пробы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Константинова В.Н., Котовицкова Е.Ф. и др. Опыт применения десмопрессина (препарата "Эмосинт") в терапии болезни Виллебранда и перспективы его использования при других видах кровоточивости // Гематол. и трансфузиол. — 2004. — Т. 49. — № 1. — С. 40 — 42.
2. Воробьев А.И., Плющ О.П., Баркаган З.С. и др. Про-

токол ведения больных. Гемофилия // Пробл. стандарт. в здравоохран. — 2006. — № 3. — С. 18—74.

3. Дементьева И.Н., Гаспарян Л.В. Влияние светодиодного излучения и антиоксидантов на функциональную активность тромбоцитов // Мед. акад. журн. — 2003. — Т. 3. — № 3. — Приложение 4. — С. 17—18.

4. Копылов К.Г., Плющ О.П., Лихачева Е.А. и др. Лечение гемофилии А с помощью фактора Виллебранда // Гематол. и трансфузиол. — 2008. — Т. 53. — № 1. — С. 17—34.

5. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. — СПб.: Формат. — 2006. — 208 с.

6. Goudemand J., Rothschild C., Demiguel V. et al. Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A // Blood. — 2006. — Vol. 107. — P. 46—51.

7. Mannucci P. M. Back to the future: a recent history of haemophilia treatment // Haemophilia. — 2008. — Vol. 14, S. 3. — P. 10—18.

8. Santagostino E., Coppola A., Rocino A. Immune tolerance induction (ITI) in patients with haemophilia A and inhibitors: the Italiane Retrospective — Prospective Registry- the PROFT study // Haemophilia. — 2008. — Vol. 10. — S. 2. — P. 57.

Поступила 14.05.09.

PECULIARITIES OF HEMOSTASIS IN HEMOPHILIA

I.L. Davydkin, Yu.A. Kosyakova, O.A. Gusyakova,
I.A. Zubova, T. Yu. Evseeva

Summary

Studied were the peculiarities of the hemostatic system reaction in the development of bleeding in 142 patients with hemophilia and the factors influencing platelet aggregation activity. Transient disturbances of platelet aggregation were found in 45% of cases by stimulating with the following drugs: ADP, collagen and universal inducer of aggregation on the background of dysproteinemia, raising the level of serum iron and thymol test.

Key words: hemophilia, hemostasis, platelet aggregation activity, ADP, collagen, an universal inducer of aggregation.