Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

**ДУ «ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ»**

**КРАСІВСЬКА Валерія Валеріївна**

УДК: 616.15-06+616.151.5-07

**ВПЛИВ НА ГЕМОСТАЗ ПАТОЛОГІЧНИХ ІНГІБІТОРІВ ЗСІДАННЯ КРОВІ У ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ**

14.01.31 – гематологія та трансфузіологія

**А в т о р е ф е р а т**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Київ – 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України», м. Львів

Науковий керівник доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України Новак Василь Леонідович, ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України», директор, завідувач відділення екстракорпоральної гематології

Офіційні опоненти доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Мінченко Жанна Миколаївна, ДУ «Науковий центр радіаційної медицини АМН України», завідувач лабораторії імуногенетики;

 доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Гриненко Тетяна Вікторівна, ДУ «Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України», завідувач відділу хімії та біохімії ферментів.

Захист дисертації відбудеться 6 жовтня 2009 р. о 13 год. 00 хв.

на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.612.01 ДУ «Інститут гематології та трансфузіології АМН України» за адресою: 04060, м. Київ, вул. М. Берлинського, 12.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут гематології та трансфузіології АМН України» за адресою: 04060, м. Київ, вул. М. Берлинського, 12.

Автореферат розісланий 5 серпня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради ГАЩУК Г.П.

# **ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Патологічні інгібітори зсідання, до яких відносять набуті інгібітори плазмових факторів, нейтралізуючі (специфічні) інгібітори у пацієнтів з вродженим дефіцитом прокоагулянту та антифосфоліпідні антитіла (АФЛА), відіграють значну роль у розвитку імунно-зумовлених патологічних станів [Е. Насонов, 2004; P.G. de Groot et al., 2006]. Встановлено імунну природу цих інгібіторів, з’ясовано антигенні мішені та частково механізми, за допомогою яких вони реалізують свій патогенний потенціал.

Поліклональні аутоантитіла до ендогенного фактора зсідання зрідка з’являються у осіб без спадкових геморагічних захворювань, спричиняючи тяжкі, часто неконтрольовані кровотечі [C. Kessler et al., 1995; **A.** Maet al., 2006]. Високоафінні поліклональні антитіла, які специфічно нейтралізують активність екзогенного (лікувального) фактора зсідання, виникають у хворих з вродженим дефіцитом прокоагулянту на фоні замісної трансфузійної терапії, викликаючи явища резистентності до цієї терапії [P.J. Lollar, 2004; C.R.M. Hay et al., 2006]. АФЛА/вовчаковий антикоагулянт (ВА), за сучасними уявленнями, – це гетерогенна популяція бімодальних аутоантитіл, які завдяки високій спорідненості до фосфоліпідів при взаємодії з білком-кофактором утворюють бівалентні комплекси і перешкоджають процесам зсідання на каталітичній поверхні, що призводить до порушення функціонування системи зсідання. Поява АФЛА може викликати мультисистемну аутоімунну патологію – антифосфоліпідний синдром (АФС) [Е. Насонов, 2004; B. Giannakopoulos et al., 2007]. Причини виникнення антитіл, які діють як патологічні інгібітори, залишаються неясними. На думку багатьох авторів, мають значення певні зовнішні (інфекції, ліки) та внутрішні (генетична схильність, порушення імунологічного контролю) фактори [J. Delgado, 2003; А. Lieby et al., 2003], і патогенетичні механізми цього явища вивчаються [J. Astermark, 2006]. Проблемними залишаються питання адекватної діагностики патологічних інгібіторів зсідання, а також їх лікування [A. Gafou et al., 2004; D. M. DiMichele, 2006].

Недостатньо вивчено поширеність, вплив на гемостаз, клінічне та прогностичне значення патологічних інгібіторів коагуляції у гематологічних хворих, зокрема, у хворих на гемофілію, ідіопатичну тромбоцитопенічну пурпуру (ІТП) та лімфоїдні неоплазії (ЛН). Лише у поодиноких повідомленнях показана роль патологічних інгібіторів зсідання у хворих на гемофілію [A.N. Blanco et al., 1997]. Вимагають опрацювання лабораторні коагулологічні методи діагностики і диференційної діагностики різних типів патологічних інгібіторів у цієї категорії хворих. Не з’ясовано питання про взаємозв’язок між наявністю ВА та розвитком імунної тромбоцитопенії [T. Atsumi et al., 2005; C. J. Bidot et al., 2004, 2006]. Відсутня однозначна думка стосовно клінічного значення антифосфоліпідної активності у хворих на ЛН [S. Pusterla et al., 2004]. Недооцінене значення виявлення ВА для об’єктивної діагностики та моніторингу ефективності лікування у хворих з первинним та вторинним АФС.

Таким чином, з’ясування особливостей впливу різного типу патологічних інгібіторів зсідання крові на систему гемостазу у гематологічних хворих, вдосконалення методівдіагностики цих антикоагулянтів є актуальною задачею з практичним значенням для сучасної гематології та коагулології.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України» і безпосередньо пов’язана з НДР, виконавцем яких була здобувач: «Вивчити причини і патогенетичні механізми розвитку у хворих на гемофілію резистентності до замісної терапії і розробити методи профілактики та лікування геморагічних проявів при цьому ускладненні» (№ Державної реєстрації 0100U001582); «Дати коагулологічну, імунологічну та клінічну характеристику вовчакового антикоагулянту та вияснити його роль в розвитку резистентності до замісної терапії у хворих на гемофілію» (№ Державної реєстрації 0103U000295); «Розробити схеми лікування геморагій у хворих на гемофілію з інгібітором» (№ Державної реєстрації 0106U002100), «Дослідити морфологічні, імунофенотипові та функціональні особливості субстратних клітин при окремих категоріях лейкемізованих лімфом і визначити їх діагностичне значення» (№ Державної реєстрації 0107U001133).

**Мета дослідження.** Визначити вплив на систему гемостазу, діагностичне і прогностичне значення патологічних інгібіторів зсідання крові у хворих на гемофілію, імунні тромбоцитопенії і лімфоїдні неоплазії та розробити комплекс коагулологічних методів підвищеного ступеня інформативності для діагностики та ідентифікації різних типів патологічних інгібіторів у хворих з вродженим дефіцитом прокоагулянту.

**Завдання дослідження:**

1. З’ясувати частоту виникнення патологічних інгібіторів зсідання крові (специфічного до дефіцитного фактора зсідання та ВА) у хворих на гемофілію.

2. Дослідити особливості показників, які характеризують зовнішній і внутрішній шляхи системи гемостазу у хворих на гемофілію з наявністю різних типів патологічних інгібіторів зсідання.

3. Розробити критерії лабораторної діагностики ВА коагулологічними методами та способи його диференційної діагностики з нейтралізуючим інгібітором у хворих на гемофілію.

4. Дослідити частоту виникнення, вплив і характер інгібіторної дії на систему зсідання крові, клінічне та прогностичне значення ВА у хворих на ІТП та ЛН.

5. З’ясувати характер інгібіторного впливу ВА на гемостаз у хворих з АФС.

***Об’єкт дослідження*** – хворі на гемофілію, хворі на ІТП, хворі на ЛН, хворі з АФС, хворі на системний червоний вовчак (СЧВ).

***Предмет дослідження*** – коагулологічні показники у хворих на гемофілію з проявами резистентності до замісної трансфузійної терапії; рівень дефіцитного фактора зсідання; рівень нейтралізуючих інгібіторів до факторів зсідання; активність ВА у хворих на гемофілію, СЧВ, ІТП, ЛН та АФС; імунні інгібітори плазмових факторів при набутій коагулопатії; нейтралізація різних типів патологічних інгібіторів зсідання крові нормальною плазмою.

***Методи дослідження.*** Коагулологічні скринінгові тести для загальної оцінки функціонального стану системи гемостазу, тести на визначення активності фактора VIII (IX) татитру інгібіторних антитіл до фактора VIII (IX), тести на виявлення активності ВА; гематологічні та статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше у хворих на гемофілію досліджено особливості і характер інгібіторного впливу на гемостаз різних типів патологічних інгібіторів зсідання (нейтралізуючого до дефіцитного прокоагулянту та ВА). Визначено спектр та частоту розвитку патологічних інгібіторів зсідання у хворих на гемофілію А і В. Враховуючи обмежені дефіцитом фактора зсідання та наявністю нейтралізуючого інгібітору можливості виявлення ВА у цих хворих, удосконалено діагностику ВА коагулологічним методом, ґрунтуючись на показниках аналітичної придатності та діагностичної інформативності тестів. Обґрунтовано нові методичні принципи ідентифікації і диференціації різних типів патологічних інгібіторів у групі хворих на гемофілію, що має значення для індивідуалізації тактики лікування.

Встановлено особливості інгібіторної дії на гемостаз і подано методи діагностики аутоімунних антитіл при набутих коагулопатіях.

У хворих на ІТП з’ясовано частоту появи ефектів ВА, його вплив на зсідання та вперше визначено характер інгібіторної дії антикоагулянту.

Встановлено, що хворі на ЛН мають підвищену схильність до утворення ВА, що є додатковим аутоімунним ускладненням при цій патології. Проаналізовано частоту ВА при різних нозологічних формах ЛН. Показано, що наявність антифосфоліпідної активності у цієї категорії хворих є несприятливою прогностичною ознакою перебігу хвороби.

Представлено особливості впливу ВА на систему коагуляції у хворих з різними клінічними проявами АФС. На основі кінетики реакції інгібіції зсідання, яка зумовлена наявністю ВА, у хворих на АФС з’ясовано тип патологічного інгібітору.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дисертаційна робота спрямована на удосконалення і підвищення аналітичної якості лабораторних методів діагностики патологічних інгібіторів зсідання крові, насамперед ВА.

Розроблено придатний для використання у клінічних лабораторіях трьохетапний метод коагулологічного визначення активності ВА, який, включаючи застосування фосфоліпід-залежних і фосфоліпід-незалежних отрут змій, повністю відповідає вимогам SSC-ISTH та Британського гематологічного товариства. Вперше визначено можливість застосування лабораторних тестів стандартизованого трьохетапного комплексу для виявлення активності ВА у хворих на гемофілію (деклараційний патент України на корисну модель № 16967).

Для ідентифікації та диференціації дефіциту факторів зсідання VIII (ІХ) і різних типів патологічних інгібіторів зсідання (ВА, нейтралізуючого інгібітору до дефіцитного прокоагулянту, набутого аутоімунного інгібітору) опрацьовано метод визначення кінетики реакції їх нейтралізації на основі дослідження динаміки корекції подовженого АПТЧ нормальною плазмою у зростаючій концентрації до і після інкубації протягом 1 год.

Показано, що дослідження ефектів ВА та моніторинг антикоагулянту у перебігу хвороби і процесі лікування необхідно проводити у хворих на гемофілію з резистентністю до замісної трансфузійної терапії, наявністю специфічних інгібіторів та підозрою на наявністьантифосфоліпідної активності, що дозволить оптимізувати лікувальну тактику у цієї категорії хворих.

Обґрунтовано доцільність впровадження у практику гематологічних відділень коагулологічних досліджень на наявність ВА у хворих на ІТП для з’ясування його ролі у патогенезі аутоімунного процесу та у хворих на ЛН для прогнозу перебігу хвороби.

Видано методичні рекомендації «Діагностика антифосфоліпідних антитіл. Методика визначення вовчакового антикоагулянту» (Київ, 2007); отримано патент на корисну модель №16967 «Спосіб діагностики вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію».

Основні результати досліджень та положення роботи впроваджено у практику консультативної поліклініки, диспансерно-методичного відділення гемофілії та коагулопатій, відділення хірургічної допомоги хворим на гемофілію, регіонального центру гемаферезу ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України»; хірургічного та гематологічного відділення, денного стаціонару 5-ої міської клінічної лікарні м. Львова; гематологічного та педіатричного відділення Львівської обласної дитячої спеціалізованої лікарні; ревматологічного відділу 4-ї міської клінічної лікарні м. Львова; Львівського міжрегіонального медико-генетичного центру на базі ДУ «Інститут спадкової патології АМН України»; представлено в 1 методичних рекомендаціях.

**Особистий внесок здобувача.** Автор особисто відібрала і проаналізувала літературні джерела на тему дослідження, обґрунтувала його актуальність, сформулювала мету і задачі, розробила план вирішення поставлених задач, опрацювала методики досліджень. При виконанні лабораторної частини роботи самостійно провела коагулологічні дослідження. Автор статистично опрацювала матеріал, проаналізувала, узагальнила та інтерпретувала отримані результати, підготувала до публікації основні матеріали, написала всі розділи дисертації, сформулювала висновки і практичні рекомендації. При аналізі результатів досліджень автор користувалась консультаціями д.мед.н., проф. В.Є. Логінського.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень доповідались і обговорювались на: XXIV міжнародному конгресі Всесвітньої федерації гемофілії (WFH; Montreal, Канада, 2000); IV з’їзді гематологів та трансфузіологів України (Київ, 2001); міжнародному симпозіумі «Гемостаз – проблеми та перспективи» (Київ, 2002); V з’їзді гематологів та трансфузіологів Республіки Білорусь «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Мінськ, 2003); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми трансфузіології» (Харків, 2004); І Українській конференції з міжнародною участю «Тромбози в клінічній практиці: профілактика, діагностика, лікування» (Київ, 2004); VIII з’їзді ВУЛТ (Івано-Франківськ, 2005); ХІ з’їзді онкологів України (Судак, АР Крим, 2006); міжнародному симпозіумі “Гемостаз – проблеми та перспективи” (Київ, 2006), Всеукраїнській науково-практичної конференції «Сучасні методичні підходи до аналізу стану здоров’я» (Луганськ, 2007); 12-ому конгресі Європейської асоціації гематологів (ЕНА; Vienna, Австрія, 2007); V з’їзді гематологів та трансфузіологів України з міжнародною участю “Підсумки та перспективи розвитку гематології та трансфузіології України” (Вінниця, 2008); ХІI конгресі СФУЛТ (Івано-Франківськ, 2008); І міжнародному конгресі «Сучасні досягнення інфузійноїтерапії» (Черкаси, 2008); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання діагностики та лікування захворювань крові» (Яремче, 2008).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 7 статей у провідних фахових виданнях, рекомендованих ВАК України, 1 деклараційний патент на корисну модель та 12 тез у матеріалах конгресів, з’їздів, симпозіумів, конференцій.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація викладена на 206 сторінках машинопису; складається з вступу, огляду літератури, загальної методики і основних методів досліджень, шести розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури, який включає 209 джерел вітчизняних та зарубіжних авторів (24 сторінки тексту), додатків (20 сторінок тексту). Робота ілюстрована 30 таблицями та 18 рисунками (29 сторінок тексту).

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Огляд літератури.** Представлено сучасні відомості про дослідження різних типів патологічних інгібіторів зсідання крові (АФЛА, набутих аутоантитіл при імунній коагулопатії та нейтралізуючих інгібіторних антитіл до дефіцитного фактора зсідання у хворих на гемофілію), причини їх виникнення, антигенні мішені та механізми реалізації патогенного потенціалу, методи діагностики, поширеність, роль у виникненні розладів гемостазу, клінічне та прогностичне значення у хворих на гемофілію, при імунних тромбоцитопеніях та у гематоонкологічних хворих.

**Загальна методика і методи досліджень.** Дослідження для виявлення патологічних інгібіторів проведено у 480 хворих на гемофілію, 54 - на ІТП, 55 - на ЛН, 11 - з первинним АФС, 55 - на CЧВ (контрольна група). Діагноз встановлювали у клінічних підрозділах на основі результатів об’єктивного та інструментального обстеження, гематологічних, цитоморфологічних, коагулологічних, біохімічних та імунологічних досліджень.

Для загальної оцінки функціонального стану системи гемостазу виконано скринінгові тести: визначення часу зсідання крові, протромбінового часу (ПЧ), активованого парціального тромбопластинового часу (АПТЧ), тромбінового часу, вмісту фібриногену. Судинно-тромбоцитарний гемостаз оцінювали на підставі кількості тромбоцитів та оцінки їх агрегації під дією агоністу АДФ та рістоцитину. Діагностику та диференціацію різних форм коагулопатій здійснювали за допомогою тесту генерації тромбопластину за Biggs, Douglas та Macfarlane [З.С. Баркаган, 1999]. Активність дефіцитного фактора зсідання визначали за уніфікованою методикою одностадійного кількісного визначення фактора (Ф) VIII (IX) [З.С. Баркаган и соавт., 1991]. Хворі на гемофілію А та В були розподілені за тяжкістю хвороби згідно класифікації З.С. Баркагана (1991). Визначення активності інгібітору до ФVIII (IX) проводили за методикою Kasper (1975) в модифікації Р.Н. Хаметової і співавт. (1987) в Бетесда Од/мл (БО/мл). За характером і інтенсивністю відповіді імунної системи хворого на повторне введення лікувального фактора VIII (ФІХ) інгібітори було поділено на транзиторні, сильної відповіді (≥10 БО/мл), та слабкої відповіді (<10 БО/мл) [C. R. M. Hay et al., 2006; C. Negrier, E.D. Gomperts, 2006].

Дослідження на наявність активності ВА виконано у 82 хворих на гемофілію з нейтралізуючими інгібіторами до дефіцитного прокоагулянту або у зв’язку з клінічними ознаками резистентності до замісної трансфузійної терапії та у всіх хворих інших груп. Діагностика ВА полягала у послідовному виконанні трьохетапного комплексу тестів для виявлення активності ВА відповідно до міжнародних критеріїв [J.T. Brandt et al., 1995; J. Arnout, M. Janovski, 2004]. І етап, скринінгові тести – тести на основі фосфоліпідів різного походження (фосфоліпід-залежні тести): каоліновий час зсідання (КЧ) у бідній на тромбоцити плазмі (БТП) - КЧБТП; АПТЧ з основною концентрацією АПТЧ-реагенту у БТП - АПТЧБТП та АПТЧ із зниженою концентрацією АПТЧ-реагенту - АПТЧзн; ПЧ з розведеним тромбопластином 1:50, 1:500 - ПЧ1:50 та ПЧ1:500; тест з розведеною фосфоліпід-залежною отрутою змії Гюрзи середньоазійської (Vipera lebetina turanica) – лебетоксовий час. При позитивному результаті хоча б одного скринінгового тесту переходили до наступного етапу. ІІ етап, корекційні тести – тести на виключення дефіциту коагуляційних факторів зсідання. Нормалізація подовжених скринінгових тестів (КЧБТП, АПТЧБТП, АПТЧзн, ПЧ1:50 та ПЧ1:500, лебетоксового часу) при доданні до системи нормальної БТП у співвідношенні 1:4 або 1:1 вказує на дефіцит прокоагулянтів. Відсутність корекції може означати наявність ВА. ІІІ етап,тести на підтвердження наявності ВА - нейтралізація ВА за допомогою відмитих, заморожених і розморожених тромбоцитів донора в концентрації 100×109/л (або еритрофосфатиду) у тесті АПТЧБТП, АПТЧзн, ПЧ1:50 та ПЧ1:500, лебетоксовому часі; розраховане за формулою співвідношення АПТЧ у БТП (АПТЧБТП) і АПТЧ у плазмі із зруйнованими шляхом заморожування і розморожування тромбоцитами (АПТЧЗТП) однієї особи (ІАПТЧ):

*ІАПТЧ = *;

різниця АПТЧБТП та у АПТЧзн на 2-й і 10-й хвилині її інкубації при 37°С (АПТЧ2-10); розрахований за формулою лебетокс/ехітоксовий (фосфоліпід-незалежна отрута змії ефи) індекс - ІЛ/Е:

 *ІЛ/Е* = 

Позитивний результат одного чи більше тестів на підтвердження свідчить про наявність активності ВА у дослідній плазмі [З.С. Баркаган и соавт., 2003].

З метою оцінки придатності лабораторних тестів для виявлення ефектів ВА у хворих на гемофілію було обраховано діагностичну чутливість, специфічність та співвідношення правдивості застосованих коагулологічних тестів [В. С. Камышников, 2000; D.G. Altman, 1994], що дозволило статистично оцінити вірогідність отримання хибно-позитивних та хибно-негативних результатів.

Статистичну обробку матеріалу виконали за допомогою пакетів прикладних програм STATISTICA for Windows 5,0 (Statsoft, USA). Порівняння параметричних показників між групами здійснювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уітні та подавали їх якмедіану, мінімум, максимум, нижній-верхній квартилі. При порівнянні частотних величин застосовували критерій χ2 і точний критерій Фішера при малому об’ємі сукупності (<30 випадків) у разі таблиць 2×2. Вплив прогностичного чинника (ВА) на виникнення події вивчали шляхом оцінки кривих виживання (Каплана-Мейера) з визначенням значущості різниці між групами за допомогою F-критерію Кокса. Вірогідність отриманих результатів оцінювали на рівні достовірності не менше 95% (р<0,05).

**Результати досліджень, їх аналіз та узагальнення.**

**Патологічні інгібітори зсідання у хворих на гемофілію (нейтралізуючий імунний інгібітор до фактора VIII (IX) і вовчаковий антикоагулянт).** Нейтралізуючий інгібітор до ФVIII (ІХ) виявлено у 65 (13,6%) хворих, частіше при гемофілії А (14,7%) ніж при гемофілії В (4,9%) з погранично достовірною різницю (χ2=3,593, р=0,061). Встановлено залежність розвитку інгібіторної гемофілії від тяжкості захворювання, що автори пояснюють ступенем генетичного порушення і, відповідно, більшим дефектом молекули фактора зсідання [J. Astermark, 2006; J. Oldenburg, 2006]. Серед хворих на тяжку форму гемофілії А поширеність специфічних інгібіторів становить 20,2%, значно рідше при помірній (10,4%; χ2=6,073, р<0,05) та легкій (4,6%; χ2=12,303, р<0,01) формах. У хворих на гемофілію В інгібітори дещо частіше було виявлено у хворих з тяжкою формою (6,7%), ніж з помірною (5,3%). Залежно від активності інгібітору, його характеру, а також типу реакції імунної системи хворого на замісну терапію виділено три групи хворих – з транзиторним (27,7%), слабкої відповіді (30,5%) та сильної відповіді (41,5%) інгібітором, без зв’язку між титром інгібітору і тяжкістю гемофілії, що співпадає з даними інших авторів [О.В. Стасишин, 2002; D.M. DiMichele, 2004].

Активність ВА було виявлено у 5,0% усіх хворих на гемофілію. Серед пацієнтів з нейтралізуючим інгібітором або з клінічними ознаками резистентності до лікування ефекти ВА встановлено у 29,3% хворих, достовірно частіше виявляли обидва типи патологічних інгібіторів (39,1%), ніж тільки ВА без нейтралізуючого інгібітору (16,7%); χ2=3,897, р<0,05. Залежності між частотою появи ВА, віком хворих, тяжкістю гемофілії, рівнем і типом нейтралізуючого інгібітору до ФVIII (ІХ) не спостерігали. Встановлена нами частота появи ВА у хворих на інгібіторну форму гемофілії дещо вища, ніж у інших дослідників, які діагностували антифосфоліпідну активність у 24,0% випадків [S.R. Deicher et al., 2002]. В результаті проведеного аналізу у хворих на гемофілію виявлено особливості впливу ВА на деякі показники з комплексу тестів для діагностики антифосфоліпідної активності. В обстеженій групі можливості коагулологічної діагностики інгібіторних ефектів ВА обмежені, що зумовлено вродженим порушенням внутрішнього шляху тромбіногенезу. З’ясовано, що на всіх етапах діагностики ВА тести, які характеризують коагуляційний гемостаз, незалежно від наявності патологічних антикоагулянтів (нейтралізуючого інгібітору до ФVIII (ІХ) та ВА), завжди здовжені, що однак не виключає наявності ВА. У загальному, отримані результати показують, що в групах хворих на гемофілію з підозрою на ВА, незалежно від первинного порушення зсідання крові (дефіциту фактора зсідання або наявності нейтралізуючого інгібітору до фактора зсідання), показники тестів, які оцінюють протромбіназну активність(ПЧ1:50, ПЧ1:500 та лебетоксовий час), достовірно здовжені. Діагностувати наявність ВА у хворих на гемофілію дозволяють тести на підтвердження фосфоліпідної природи антикоагулянту - АПТЧБТП та тести з розрахунком відповідних індексів: ІАПТЧ та ІЛ/Е. Ми рекомендуємо, як і більшість дослідників, при підозрі на наявність ВА та специфічного інгібітору до фактора зсідання, незалежно від результатів у тесті АПТЧ, переходити до виконання ІІІ етапу, оскільки диференційна діагностика між нейтралізуючим інгібітором та інгібітором антифосфоліпідного типу може бути здійснена тільки за допомогою підтверджувальних тестів [А. Blanco et al., 1997; J. Arnout, M. Janovski, 2004]. У хворих на гемофілію встановлено достовірне порушення агрегаційної функції тромбоцитів, порівняно з контрольною групою та хворими без антикоагулянту, і виявлено зв’язок між появою ВА та дезагрегаційними порушеннями (χ2=4,946; р<0,05). На нашу думку, порушення функції тромбоцитів можна розглядати як додаткову ознаку наявності антифосфоліпідної активності. За останні 8 років ми спостерігали 3 випадки набутої гемофілії. У хворої з набутим інгібітором ФІХ (титр 13,0 БО/мл, активність ФІХ 50%) для з’ясування характеру інактивації інгібіторних антитіл нормальною плазмою у часі, ми вивчали кінетику корекції подовженого АПТЧ нормальною плазмою [G. B. Lutze et al., 1996]. Встановлено, що при набутій імунній коагулопатії аутоантитілам притаманна складна кінетика (ІІ типу) перебігу реакції інактивації з негайним початком та здатність до додаткової нейтралізації прокоагулянту, збереженої навіть після тривалої інкубації, що відзначають і інші автори [C. Kessler et al., 1995; P. J. Lollar, 2004].

8

**Удосконалення методів діагностики та диференційної діагностики патологічних інгібіторів зсідання у хворих на гемофілію.** Оскільки у хворих на гемофілію вплив ВА може перешкоджати визначенню специфічних інгібіторів (особливо у низькому титрі) або мімікрувати їх дію [A. Blanco et al., 1996, 2002], дослідження були спрямовані на удосконалення діагностики, ідентифікації та диференціації різних типів патологічних інгібіторів зсідання у цієї категорії хворих. Оцінюючи можливості застосування розробленого стандартизованого трьохетапного комплексу коагулологічних тестів для виявлення ефектів ВА, встановлено, що у зв’язку з низькою діагностичною специфічністю (<80,0%) та/або низькою діагностичною чутливістю (<80,0%) тести, які характеризують коагуляційний гемостаз (КЧБТП, АПТЧБТП, АПТЧзн), непридатні на всіх етапах діагностики ВА у хворих на гемофілію (рис 1-3).

Тести, які характеризують активність протромбінового комплексу - ПЧ1:50, ПЧ1:500, лебетоксовий тест виявили високу діагностичну чутливість та специфічність (>75,0%; р<0,05) на І, ІІ та ІІІ етапах і придатні для діагностики ВА (рис. 2). При підтвердженні фосфоліпід-залежної природи антикоагулянту виявлено достовірно високу чутливість, специфічність та співвідношення правдивості для тестів ІАПТЧ та ІЛ/Е (р<0,05) (рис. 3). Примітно, що лебетоксовий тест на скринінговому етапі дослідження та ІЛ/Е на підтверджувальному етапі мав найвищу достовірність та найкращі показники діагностичних критеріїв придатності порівняно з іншими тестами (відповідно χ2=19,932, р<0,001 та р=0,001). Це підтверджує думку деяких авторів, що у хворих на гемофілію при підозрі на наявність ВА, незалежно від подовженого



**Рис. 1 Показники діагностичної чутливості та специфічності тестів І етапу для виявлення активності ВА у хворих на гемофілію**

138



**Рис. 2 Показники діагностичної чутливості та специфічності тестів ІІ етапу для виявлення активності ВА у хворих на гемофілію**

138



**Рис. 3 Показники діагностичної чутливості та специфічності тестів ІІІ етапу для виявлення активності ВА у хворих на гемофілію**

138

АПТЧ, необхідно перейти до виконання додаткових тестів з гетерогенними коагулазами [A. Blanco et al., 1996, 1997; R.L. Bick, 2000].

Нами виконано аналіз інформативності тестів трьохетапного методу виявлення активності ВА у досліджуваній групі. Отримані результати підтверджують наші передбачення щодо діагностичної придатності окремих тестів. Враховуючи показники чутливості, специфічності, співвідношення правдивості, а також інформативності застосованих коагулологічних методів, розроблено новий оригінальний алгоритм діагностики ВА з урахуванням особливостей гемостазу у хворих на гемофілію (деклараційний патент України на корисну модель №16967). На І етапі рекомендовано виконання тестів АПТЧБТП, ПЧ1:50, ПЧ1:500, лебетоксового часу. При позитивному результаті хоча б одного тесту слід перейти до виконання ІІ етапу. За умови відсутності корекції нормальною плазмою ПЧ1:50, ПЧ1:500 та лебетоксового часу на ІІ етапі виявлення ВА необхідно виконувати ці тести і додатково ІАПТЧ та ІЛ/Е на ІІІ етапі. Позитивний результат одного і більше тестів ІІІ етапу підтверджує наявність ефектів ВА (рис. 4).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Скринінгові тести (І етап)** | Позитивний результат | **Корекційні тести (ІІ етап)** |
| - АПТЧБТП | - ПЧ1:50- ПЧ1:500-лебетоксовий тест |  | - ПЧ1:50- ПЧ1:500- лебетоксовий тест |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Негативний результат ВА (-) | Позитивний результат | Негативний результат ВА (-) |
| **Підтверджувальні тести (ІІІ етап)** |
| - ІАПТЧ- ПЧ1:50- ПЧ1:500-лебетоксовий тест |

|  |  |
| --- | --- |
| Позитивний результат - ВА(+) | Негативний результат - ВА(-) |

**Рис. 4 Алгоритм діагностики вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію**

Специфічний інгібітор до факторів зсідання (І тип) і ВА (ІІ тип) відрізняються за швидкістю інгібіторної дії і характером її нейтралізації нормальною плазмою у тесті АПТЧ. Диференціацію між антитілами І та ІІ типу більшість авторів рекомендують проводити на основі афінності їх взаємодії з ФVIII [G. Lutze et al., 1996; J-M. R. Saint-Remy et al., 2004]. Ми запропонували досліджувати кінетику реакції інактивації патологічного інгібітору нормальною плазмою у зростаючій концентрації, визначаючи і порівнюючи дві кінетичні криві – безпосередньо після приготування суміші дослідної і нормальної плазми та через 1 год. їх інкубації при 37 °С з побудовою відповідного графіка. Така модифікація тесту дозволяє нетільки відрізнити дефіцит фактора зсідання від патологічного інгібітору за можливістю його нейтралізації нормальною плазмою, але й тип патологічного інгібітору за характером його впливу на зсідання. Встановлено, що у хворих на гемофілію у випадку зниженої активності фактора зсідання спостерігається проста кінетика (І тип) реакції корекції подовженого АПТЧ, зумовлена надходженням у систему (суміш) разом з нормальною плазмою дефіцитного фактора. Нормалізація АПТЧ настає вже при доданні 25% або 50% нормальної плазми, і характер кривої не міняється після інкубації 1 год. (рис. 5а). Специфічний інгібітор до дефіцитного прокоагулянту проявляє свою активність тільки після інкубації (прогресивний інгібітор) і нейтралізується більшою кількістю доданої нормальної плазми. Кінетика інактивації прогресивного інгібітору залишається простою (І тип кривої) і залежною від часу, що вказує на алоімунне походження специфічних антитіл у хворих на гемофілію (рис. 5б) [C. Kessler et al., 1995; G. Lutze et al., 1996].

Одночасна наявність нейтралізуючого інгібітору і антифосфоліпідної активності (ВА) призводить до комплексної кінетики інактивації нормальною плазмою у тесті АПТЧ (ІІ тип кривої, яка носить індивідуальний характер) (рис. 5в-з). В одному випадку спостерігали переважну прогресивну активність імунного інгібітору до ФVIII, а ВА не впливав на перебіг процесу зсідання крові (рис. 5в). В інших хворих (рис. 5г-з) ВА діє негайно та додатково інгібує реакції зсідання, як і у позитивному контролі для ВА (хвора на СЧВ з ВА та АФС) (рис. 5к), зумовлює комплексну кінетику нейтралізації (ІІ тип кривої), властиву аутоантитілам. В одному випадку нейтралізуючий інгібітор і ВА підсилюють дію один одного, діючи синергічно (рис. 5г, д). В іншому, інгібітор до прокоагулянту має вовчакоподібну природу або ВА мімікрує дію нейтралізуючих антитіл (рис. 5ж, з). Такий погляд підтверджують відомості літератури про виявлення помірної або дуже низької інгібіторної активності у хворих з ВА при дослідженні інгібіторів методом Bethesda [A. Blanco et al., 2002].

**Вовчаковий антикоагулянт у хворих на імунні тромбоцитопенії.** В обстеженій групі ефекти ВА виявлено у 14,8% хворих, вдвічі частіше, ніж описано у літературі (7,0%-7,4% випадків) [M. Funnauchi et al., 1997; C. Pierrot-Deseilligny et al., 2006]. Не спостерігали залежності між частотою ВА та віком і статтю хворих. Операцію спленектомії перенесли 48,1% хворих. Встановлено пограничну значущість різниці частоти появи ВА в активному періоді ІТП (23,1%) і після спленектомії (7,1%), що може свідчити про зв’язок антикоагулянту як з активністю хвороби, так і з видаленням селезінки. Виявлено вірогідні зміни коагулологічних показників у обстежених хворих з ВА, що пов’язано з впливом антикоагулянту на систему зсідання. Не спостерігали суттєвих відмінностей у кількості тромбоцитів між неоперованими хворими на ІТП без ВА та хворими з виявленим ВА. Аналізуючи клінічні наслідки антифосфоліпідної активності у обстежених хворих, ми, як і інші дослідники [R. Stasi et al., 1994; C.J. Bidot et al., 2004], не встановили зв’язку ВА з наявністю геморагічних проявів. У реакції нейтралізації інгібіторного впливу антикоагулянту нормальною плазмою у хворих на ІТП спостерігали комплексну кінетику ІІ порядку, яка притаманна аутоімунним антитілам. Отримані результати свідчать, що ВА не задіяний в патогенезі ІТП та не впливає на прогноз









**Рис. 5 Кінетичні криві корекції подовженого АПТЧ нормальною плазмою у хворих на гемофілію А**

а – без патологічних інгібіторів, б – з нейтралізуючим інгібітором, в-з – з двома патологічними інгібіторами, к – хвора на СЧВ з ВА та АФС.

лікування, а клініко-гематологічні прояви, зниження кількості тромбоцитів не пов’язані з антифосфоліпідною активністю.

**Вовчаковий антикоагулянт у хворих на лімфоїдні неоплазії.** У загальному, ВА було діагностовано у 18,2% обстежених хворих, що співпадає із спостереженнями більшості дослідників, які констатували наявність АФЛА/ВА у 17-20% хворих на неоплазії [S. Pusterla et al., 2004]. Встановлено неоднакову частоту ВА при окремих нозологічних формах: найвищу при ММ (31,6%), нижчу при ХЛЛ (12,5%) і злоякісних лімфомах (10,7%) без статистично вірогідної різниці між цими формами та нелікованими і лікованими хворими. У хворих з підозрою на наявність антифосфоліпідної активності виявлено вірогідні зміни коагулологічних показників, зниження кількості тромбоцитів та порушення їх агрегації, що дозволяє нам стверджувати про наявність інгібіторного впливу патологічного антикоагулянту на систему зсідання. Спостерігали зниження кількості тромбоцитів (<150х109/л) частіше у загальній групі хворих з ВА порівняно з ВА-негативними особами з пограничною значущістю (χ2=3,724), а серед лікованих хворих – вірогідно (точний тест Фішера р=0,033). При ММ існує зв’язок між концентрацією парапротеїну (М- градієнту) у сироватці крові та наявністю ВА (медіана 34,5 г/л проти 23,4 г/л; р<0,05), що може свідчити про роль парапротеїнів у виникненні антифосфоліпідної активності та її залежності від тяжкості перебігу хвороби. Виникнення геморагічних проявів/тромбозів у хворих на ЛН не залежить від наявності або відсутності ВА, що співпадає з повідомленнями інших дослідників [A. [Shinagawa](https://hin-sweb.who.int/http%3A/www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&term=%22Shinagawa+A%22%5BAuthor%5D) et al., 2001; O. [Takamiya](https://hin-sweb.who.int/http%3A/www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Search&term=%22Takamiya+O%22%5BAuthor%5D) et al., 2004].

Аналізуючи тривалість життя хворих на ЛН залежно від наявності ВА, ми відзначили на різних термінах спостереження суттєво більшу частку померлих серед хворих з виявленою активністю ВА (70,0%), порівняно з хворими без ВА (15,6%); χ2=10,073, р<0,05. За кривими виживання Каплана-Мейера загальна тривалість життя хворих з антифосфоліпідною активністю достовірно менша, ніж у хворих без інгібітору (р=0,001) (рис. 6). Таким чином, наявність активності ВА у хворих на ЛН може бути однією з несприятливих прогностичних ознак.

**Рис. 6 Криві виживання хворих на ЛН залежно від наявності ВА**



**Вовчаковий антикоагулянт у хворих з первинним антифосфоліпідним синдромом.** У 9 (82,0%) з 11 хворих з первинним АФС виявлено вірогідні зміни коагулологічних показників, що свідчить про вплив ВА на систему зсідання. Активність ФVIII та ФIX була достовірно зниженою, що на нашу думку та думку інших авторів [J Arnout, 2001; P.G. de Groot, 2001], є наслідком перешкоджання ВА взаємодії прокоагулянтів на фосфоліпідних матрицях. За отриманими результатами, у хворих з АФС виявлено зниження кількості, і як наслідок, порушення агрегаційної здатності тромбоцитів, що відзначають інші дослідники [Arnout J., M. Janovski, 2004; A. Gafou et al., 2004]. Вперше з’ясовано характер нейтралізації ВА нормальною плазмою у хворих з АФС у тесті АПТЧ, яку за кінетикою реакції можна віднести до комплексної (ІІ порядку), притаманної аутоантитілам.

Підсумовуючи результати проведених нами досліджень, треба відзначити, що патологічні інгібітори зсідання (набуті аутоантитіла до прокоагулянтів, нейтралізуючі специфічні інгібітори дефіцитних факторів зсідання при гемофілії та антифосфосфоліпідні антитіла/вовчаковий антикоагулянт) значною мірою впливають на гемостаз і відіграють роль у розвитку різних патологічних станів або ускладнень залежно від типу інгібітору. Розроблені нами нові діагностичні критерії, з’ясована коагулологічна характеристика та виявлені особливості впливу на гемостаз патологічних інгібіторів доповнюють знання про механізми реалізації їхнього патогенного потенціалу, клінічне та прогностичне значення.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, яка полягає в з’ясуванні впливу на систему гемостазу, діагностичного та прогностичного значення патологічних інгібіторів зсідання у хворих на гемофілію, імунні тромбоцитопенії, лімфоїдні неоплазії, а також при деяких аутоімунних процесах. Обґрунтовано та розроблено коагулологічні методи підвищеного ступеня інформативності диференційної діагностики різних типів патологічних інгібіторів зсідання для моніторингу хворих із спадковим дефіцитом прокоагулянту.

2. Нейтралізуючі інгібіторні антитіла до дефіцитного фактора виникають у 13,6% хворих на гемофілію. Частота інгібіторної форми гемофілії залежить від типу та тяжкості захворювання. Залежно від рівня активності та типу нейтралізуючі інгібітори розподілено на транзиторні інгібітори, інгібітори слабкої та сильної відповіді. У хворих на гемофілію у 29,3% осіб виявлено ефекти ВА, частіше у хворих з наявним нейтралізуючим інгібітором (39,1%), ніж у хворих без нього (16,7%).

3. У хворих на гемофілію при лабораторній діагностиці ВА трьохетапним коагулологічним методом встановлено, що виявлення антикоагулянту ґрунтується на тестах, які характеризують протромбіназну активність, та на тестах підтверджувального етапу. На основі аналізу аналітичної придатності та діагностичної інформативності окремих коагулологічних тестів створено алгоритм діагностики ефектів ВА у цих хворих.

4. Запропоновано оригінальний метод диференціації дефіциту факторів зсідання VIII (ІХ) і наявності різних типів патологічних інгібіторів, який ґрунтується на дослідженні динаміки нейтралізації інгібітору нормальною плазмою у зростаючій концентрації до і після інкубації протягом 1 год. у тесті АПТЧ. Метод дозволяє виявити активність прогресивного (специфічний інгібітор до дефіцитного фактора; кінетика реакції І типу) та негайного (набутий інгібітор до фактору зсідання, ВА; складна кінетика реакції ІІ типу) патологічних інгібіторів зсідання.

5. У 14,8% хворих на імунні тромбоцитопенії виявлено інгібіторний вплив ВА на систему коагуляції. Зниження кількості тромбоцитів, порушення їх агрегації, частота геморагічних проявів у цих хворих не зумовлені наявністю ВА.

6. Зміни коагулологічних показників, характерні для ВА, спостерігали у 18,2% хворих на лімфоїдні неоплазії переважно при множинній мієломі без вірогідної різниці між окремими формами та нелікованими і лікованими хворими. Зниження кількості тромбоцитів та порушення їх агрегації пов’язані з наявністю ВА, особливо у лікованих хворих. Антикоагулянт не впливає на виникнення геморагічних проявів/тромбозів. У хворих на множинну мієлому існує зв’язок між наявністю ВА та концентрацією парапротеїну. Наявність ВА може бути однією з несприятливих прогностичних ознак у хворих на ЛН.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. У комплекс лабораторного дослідження хворих на гемофілію рекомендовано включити визначення та моніторинг специфічних імунних інгібіторних антитіл до фактора VIII (ІХ) зсідання.

2. Для виявлення ефектів ВА у хворих на гемофілію з інгібіторами та клінічними ознаками резистентності до замісної трансфузійної терапії необхідно виконувати коагулологічні дослідження на виявлення ефектів вовчакового антикоагулянту за запропонованим алгоритмом, у якому врахована діагностична інформативність тестів для цих хворих.

3. Для диференційної діагностики патологічних інгібіторів зсідання (набутих при імунній коагулопатії, нейтралізуючих антитіл до прокоагулянтів та вовчакового антикоагулянту) доцільно з’ясовувати кінетику реакції інактивації патологічного інгібітору нормальною плазмою у зростаючій концентрації у тесті АПТЧ, визначаючи і порівнюючи дві кінетичні криві – безпосередньо після приготування суміші дослідної і нормальної плазми та через 1 год. їх інкубації при 37°С з побудовою відповідного графіка.

4. Наявність антифосфоліпідних антитіл у хворих на хронічні лімфоїдні неоплазії слід розглядати як один з несприятливих прогностичних критеріїв.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Лабораторна діагностика вовчакового антикоагулянту / В.Є. Логінський, В.П. Руденко, О.В. Стасишин, В.В. Красівська, Г.М. Гриценко // Лабораторна діагностика. - 2000. - №4. - С. 5 - 10. *Здобувачем виконано коагулологічні дослідження для виявлення активності вовчакового антикоагулянту, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*

2. Динаміка вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію А / О.В. Стасишин, В.В. Красівська, В.П. Руденко, В.Є. Логінський // Гематологія і переливання крові: міжвід. зб. – К. : Знання України, 2002. - Вип. 31. - С. 104 - 109. *Здобувачем опрацьовано літературу з питаньпояви вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію, здійснено набір матеріалу, аналіз динаміки коагулологічних показників.*

3. Характеристика імунної дисфункції у хворих на гемофілію залежно від тривалості замісної терапії антигемофільними препаратами / О.В. Стасишин, В.Л. Новак, Г.Б. Лебедь, В.В. Красівська, О.М. Тушницький, В.Є. Логінський // Гематологія і переливання крові: міжвід. зб.-Х. : “НТМТ”, 2004. - Вип 32. - ч. 1. - С. 294 - 299. *Здобувачем виконано дослідження на наявність інгібіторних антитіл до дефіцитного прокоагулянту у хворих на гемофілію.*

4. Тест корекції активованого парціального тромбопластинового часу нормальною плазмою у хворих на гемофілію А з різними типами патологічних інгібіторів / В.В. Красівська, В.Є. Логінський, О.В. Стасишин, В.Л. Новак // Кровообіг та гемостаз. - 2006. - №3. - С 5 - 12. *Здобувачем опрацьована методика диференційної діагностики різних типів патологічних інгібіторів зсідання, виконано дослідження на виявлення інгібіторних антитіл до факторів зсідання та вовчакового антикоагулянту, проведено побудову графіків, аналіз та узагальнення отриманих даних.*

5. Вовчаковий антикоагулянт у хворих на імунну тромбоцитопенічну пурпуру / В.Є. Логінський, В.В. Красівська, І.Й. Євстахевич, О.В. Стасишин, М.М. Семерак, В.Л. Новак // Гематологія і переливання крові: міжвід. зб. – К. : Нора – Друк, 2006. - Вип. 33. - С. 47 - 52. *Здобувачем опрацьовано дані літератури за темою публікації, досліджено активність вовчакового антикоагулянту у плазмі крові хворих, проведено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих даних.*

6. Антифосфоліпідні антитіла (вовчаковий антикоагулянт) при інфекції вірусом імунодефіциту людини з гематологічними проявами / О.В. Стасишин, В.В. Красівська, К.Б. Котлярчук, З.В. Масляк, В.Є. Логінський // Український журнал гематології та трансфузіології. - 2006. - № 6 (6). - С. 37 - 41. *Здобувачем проаналізовано дані літератури з питань появи вовчакового антикоагулянту у ВІЛ-інфікованих хворих, виконано дослідження на виявлення активності вовчакового антикоагулянту, проведено аналіз отриманих результатів.*

7. Вовчаковий антикоагулянт у хворих на лімфоїдні неоплазії / В.В. Красівська, О.В. Стасишин, В.Л. Матлан, О.О. Шалай, Г.Б. Лебедь, Л.М. Лукавецький, К.Б. Котлярчук, О.О. Басова, В.Л. Новак, В.Є. Логінський // Гематологія і переливання крові: міжвід. зб. – К. : Атіка-Н, 2008. - Вип. 34, Том І. - С. 215 - 218. *Здобувачем опрацьовано літературу з питань виникнення антифосфоліпідної активності у хворих на лімфоїдні неоплазії, виконано коагулологічні дослідження для виявлення вовчакового антикоагулянту, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних.*

8. Деклараційний патент на корисну модель № 16967 Україна, МПК (2006) А61В 5/00 Спосіб діагностики вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію / Стасишин О.В., Красівська В.В., Логінський В.Є., Євстахевич І.Й., Новак В.Л. та заявник і власник патенту ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України». – u 2005 12005; заявл. 14.12.2005; опубл. 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

9. Ингибиторная форма гемофилии: частота и лабораторно-клиническая характеристика / А.В. Стасишин, В.В. Красивская, В.П. Руденко, В.Е. Логинский // Актуальные проблемыгематологии и трансфузиологии: V съезд гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь, 16-17 июня 2003г.: Сб. науч. тр. к 70-летию НИИ гематологии и переливания крови / Под ред. В.Н. Гапановича. - Минск: НПООО “Стринко”, 2003. - Т.І. - С. 128 - 132.

10. Вплив лікування на динаміку вовчакового антикоагулянту при множинній мієломі / В.В. Красівська, В.Л. Матлан, О.В. Стасишин, Р.М. Лотоцький, В.В. Орлик. В.Л. Новак // Український хіміотерапевтичний журнал. - № 1, 2 (22). – С. 206 – 209.

11. Haemophilia with inhibitors and its immunopathogenesis / O. Stasyshyn, V. Rudenko, V. Krasivskaya // Haemophilia. - 2000. - V. 6, № 4: Book of Abstracts of XXIV International Congress of World Federation of Haemophilia. (Montreal, Canada, 16-21 July 2000) / Sp.Ed.: Dr C. Kasper. - Glasgow, UK, 2000. - P.279 - 279.

12. Розвиток імунних інгібіторів до фактора VIII (IX) при гемофілії - основна причина резистентності хворих до замісної терапії **/** В.П. Руденко, О.В. Стасишин, В.В. Красівська // Гематологія і переливання крові: Міжвід. зб., IV з’їзд гематологів та трансфузіологів України, 16-18 травня 2001 р.: матер. зїзду. – К. : Нора-прінт, 2001. - Вип. 30. - С. 134.

13. Діагностика вовчакового антикоагулянта у хворих на гемофілію А з допомогою гетерогенних коагулаз / О.В. Стасишин, В.В. Красівська, Т.В. Даниш, В.Є. Логінський // Тромбози в клінічній практиці: профілактика, діагностика, лікування: І Укр. конфер. з міжнар. участю: 27-28 травня 2004 р.: матеріли конф. – К. : ІВЦ АЛКОН, 2004. - С. 182 - 184.

14. Особливості кінетики нейтралізації інгібіторної дії на процес зсідання імунного інгібітора до фактора VIII і вовчакового антикоагулянтау у хворих на гемофілію / В.Є. Логінський, О.В. Стасишин, В.В. Красівська // Ювілейний VIII з’їзд ВУЛТ присвячений 15-річчю організації, Івано-Франківськ, 21–22 квітня 2005 р: тези доп. – К. :Укр. мед. вісті. – 2005. – №1 – 2, Т. 6. част. І. – С.284 - 284.

15. Частота появи вовчакового антикоагулянту у хворих на лімфопроліферативні захворювання (ЛПЗ) / О.В. Стасишин, В.В. Красівська, В.Л. Матлан, В.Є. Логінський, В.Л. Новак // XI з’їзд онкологів України, Судак, 29 травня–02 червня 2006 р.: матер. з’їзду. – К., 2006. – С. 238.

16. Активність вовчакового антикоагулянту у хворих на лімфоїдні пухлини / В.В. Красівська, О.В. Стасишин, В.Є. Логінський, В.Л. Новак // Сучасні методичні підходи до аналізу стану здоров’я: всеукр. наук. - практ. конф., 14-16 травня 2007 р.: матер.конф. - Луганськ: ЧП натис, 2007. - С. 12.

17. Вплив спленектомії на частоту вовчакового антикоагулянту у хворих на ІТП / І.Й. Євстахевич, В.В. Красівська, О.В. Стасишин, Ю.Л. Євстахевич, В.Ф. Інденко, О.В. Книш, М.М. Семерак, В.Є. Логінський // Сучасні методичні підходи до аналізу стану здоров’я: всеукр. наук. - практ. конф., 14-16 травня 2007 р.: матер.конф. - Луганськ: ЧП натис, 2007. - С. 11.

18. Lupus anticoagulant associated with lymphoid neoplasms / V. Loginsky, V. Krasivska, O. Stasyshyn, Y. Vygovska // Haematologica / the Hematology journal. - 2007. - V. 92, № 1. - P. 455. (12th Congress of the European Hematology Association: Abstract book (7-10 June 2007, Vienna, Austria).

19. Красівська В.В. Виявлення ефектів вовчакових антикоагулянтів у хворих на системний червоний вовчак / В.В. Красівська, О.В. Стасишин // ХІI конгрес СФУЛТ, 25–28 вересня 2008 р.: тези доп. – Івано-Франківськ – Київ – Чікаго. – 2008. – С. 147.

20. Красівська В.В. Поширеність вовчакового антикоагулянту у хворих на гемофілію / В.В. Красівська, О.В. Стасишин // Актуальні питання діагностики та лікування захворювань крові: всеукр. наук. - практ. конфер., Яремче, 2-3 жовтня 2008 р.: матер. конф. – К., 2008. - С. 211.

**АНОТАЦІЯ**

**Красівська В.В. Вплив на гемостаз патологічних інгібіторів зсідання крові у гематологічних хворих. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія. – Державна установа «Інститут гематології та трансфузіології АМН України», Київ, 2009.

У дисертації представлено результати дослідження поширеності, впливу на гемостаз, діагностичного, клінічного та прогностичного значення патологічних інгібіторів коагуляції (нейтралізуючих у пацієнтів з вродженим дефіцитом прокоагулянту, вовчакового антикоагулянту та набутих аутоантитіл до плазмових факторів при імунній коагулопатії) у гематологічних хворих, зокрема, у хворих на гемофілію, ідіопатичну тромбоцитопенічну пурпуру та лімфоїдні неоплазії; та деякі аутоімунні процеси. Виявлено особливості гемостазу у хворих на гемофілію з двома типами патологічних інгібіторів зсідання крові та опрацьовано коагулологічні методи їх ідентифікації і диференціації. На основі аналізу аналітичної придатності та діагностичної інформативності окремих коагулологічних тестів створено алгоритм діагностики ефектів вовчакового антикоагулянту у цієї категорії хворих. Встановлено частоту появи вовчакового антикоагулянту у хворих на імунні тромбоцитопенії і лімфоїдні неоплазії та з’ясовано характер нейтралізації інгібітору нормальною плазмою. У хворих на імунні тромбоцитопенії показано зв’язок хірургічного лікування з частотою виявлення вовчакового антикоагулянту. При аналізі безподійної тривалості життя визначено, що наявність антифосфоліпідної активності є однією з несприятливих прогностичних ознак у хворих на лімфоїдні неоплазії.

**Ключові слова:** гемофілія, імунні тромбоцитопенії, лімфоїдні неоплазії, специфічний інгібітор, вовчаковий антикоагулянт.

**АННОТАЦИЯ**

**Красивская В.В. Влияние на гемостаз патологических ингибиторов свёртывания крови у гематологических больных. – Рукопись.**

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.31 – гематология и трансфузиология. – Государственное учреждение «Институт гематологии и трансфузиологии АМН Украины», Киев, 2009.

Диссертация посвящена изучению распространённости, коагулологической диагностики, влияния на систему гемостаза, клинического и прогностического значения патологических ингибиторов свёртывания (нейтрализирующих при наследственном дефиците прокоагулянта, волчаночного антикоагулянта (ВА) и приобретённых аутоантител к факторам свертывания при иммунной коагулопатии) у гематологических больных, а именно, у больных гемофилией, иммунными тромбоцитопениями, лимфоидными неоплазиями и некоторыми аутоиммунными процессами.

На основании проведённых исследований у 480 больных гемофилией А и В изучена частота появления и характер нейтрализирующего ингибитора. Установлена прямая зависимость распространённости ингибиторных антител от формы и тяжести заболевания (дефицита прокоагулянта). В зависимости от уровня активности и характера реакции иммунной системы больного выделено три типа ингибитора: транзиторный, слабого и сильного ответа. Исследование на предмет наличия эффектов ВА выполнено у 82 больных гемофилией с нейтрализирующими ингибиторами или клиническими признаками резистентности к заместительной трансфузионной терапии. В 29,3% случаев выявлено активность ВА, достоверно чаще среди больных с нейтрализирующим ингибитором, чем без него. Для выявления антикоагулянта использовали современный трёхэтапный коагулологический метод, включающий тесты с фосфолипид-зависимыми и фосфолипид-независимыми ядами змей. Установлено ограниченные возможности такой диагностики у больных гемофилией, что связано с наследственным нарушением гемостаза. Основываясь на анализе аналитической пригодности и диагностической информативности, разработан алгоритм диагностики эффектов ВА у больных гемофилией.

Для дифференциации дефицита фактора свертывания VIII (ІХ) и наличия разных типов патологических ингибиторов предложен метод, который базируется на исследовании динамики нейтрализации ингибитора нормальной плазмой в возрастающей концентрации до и после инкубации на протяжении 1 ч. в тесте АПТЧ. Предложенный метод позволяет также идентифицировать тип патологического ингибитора – прогрессивный (специфический к дефицитному фактору; І тип) и немедленный (ВА или приобретённый к прокоагулянту; ІІ тип). Среди 54 больных иммунной тромбоцитопенией в 14,8% случаев выявлено ингибиторное влияние ВА на систему свертывания. Установлена связь хирургического лечения с частотой возникновения ВА. Показано, что наличие ВА не влияет на снижение количества тромбоцитов и частоту геморрагических проявлений у обследованных больных.

Изменения коагулологических показателей, характерных для ВА, наблюдали у 18,2% больных лимфоидными неоплазиями с большей частотой при множественной миеломе без достоверной разницы между отдельными формами, леченными и нелеченными больными. У больных множественной миеломой показана связь возникновения эффектов ВА с концентрацией парапротеина. Изучено влияние антифосфолипидной активности на снижениеколичества тромбоцитов, нарушение их агрегации и клинические проявления (геморрагии, тромбозы). При оценивании функции выживания с помощью метода Каплана-Мейера у больных лимфоидными неоплазиями установлено, что появления наличие активности ВА может быть одним из неблагоприятных прогностических признаков при этой патологии. При первичном антифосфолипидном синдроме (11 больных) активность ВА диагностирована в 81,8% случаев. Констатированы характерные для ВА изменения в гемостазе, умеренные тромбоцитопения и тромбоцитопатия.

У больных иммунными тромбоцитопениями, лимфоидными неоплазиями, системной красной волчанкой, первичным антифосфолипидным синдромом с выявленными эффектами ВА, тип реакции нейтрализации в тесте АПТЧ соответствует безотлагательному ингибитору, что характерно для аутоиммунных антител.

**Ключевые слова:** гемофилия, иммунные тромбоцитопении, лимфоидные неоплазии, специфический ингибитор, волчаночный антикоагулянт.

**SUMMARY**

**Krasivska V.V. Influence on hemostasis of pathological blood coagulation inhibitors in patients with hematological disorders. – Manuscript.**

PhD thesis in biology, specialty 14.01.31 – Hematology and Transfusiology. State institution “Institute of haematology and transfusiology, Academy of Medical Sciences, Ukraine”, Kyiv, 2009.

The PhD dissertation presents results of the study investigating the incidence, influence on hemostasis, diagnostic, clinical and prognostic significance of pathological coagulation inhibitors (neutralizing inhibitors in patients with congenital deficiency of procoagulant, lupus anticoagulant and acquired antibodies to plasma factors in immune coagulopathy) in hematological patients, particularly in patients with hemophilia, idiopathic thrombocytopenic purpura and lymphoid malignancies, as well as certain autoimmune conditions. Features of hemostasis in patients with hemophilia with two types of pathological blood coagulation inhibitors were revealed; coagulological methods for their identification and differentiation were worked up.

Based on the analysis of analytical feasibility and diagnostic usefulness of particular coagulological tests, there was created an algorithm for diagnostics of lupus anticoagulant activity in this category of patients. Incidence of lupus anticoagulant occurrence in patients with immune thrombocytopenias and lymphoid malignancies was established; nature of inhibitor neutralization with normal plasma was clarified. Relation between surgical treatment and incidence of lupus anticoagulant occurrence was shown for immune thrombocytopenia patients. Analysis of the event free survival revealed poor prognostic meaning of antiphospholipid activity occurrence in patients with lymphoid malignancies.

**Key words**: hemophilia, immune thrombocytopenia, lymphoid malignancies, specific inhibitor, lupus anticoagulant.

Формат 60х84 1/16

Папір офсетний Друк офсетний Ум.др.арк. 1.0

Замовлення 52 Тираж 100 пр.

***Видавничо-поліграфічний відділ ЛвЦНТЕІ***

79058, м. Львів, пр. Чорновола, 57

  Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>