

Abstract

**V. V. Krasivska,
O. V. Stasyshyn,**

*State institution "Institute of Blood
Pathology and Transfusion Medi-
cine under the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine",
45 Generala Chupryny St, Lviv,
79044, Ukraine*

**DIAGNOSTICS OF CONGENITAL AND ACQUIRED
HEMORRHAGIC DISEASES IN PATIENTS WITH ISOLATED
PROLONGED ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN
TIME USING LABORATORY ALGORITHM**

The **purpose** of the study was to establish the causes of hemorrhagic syndrome in patients and develop the laboratory diagnostics algorithm of coagulative haemostasis with the help of two groups of correctional tests, screenings and specification diagnosis tests.

Materials and Methods: The subject of the research constitutes 61 patients with hemorrhagic syndrome, who contacted us to be diagnosed. All the patients underwent coagulative screenings. The research includes patients with isolated prolonged activated partial thromboplastin time (APTT), which indicates a disorder of the internal mechanism of thrombogenesis system due to a deficiency or inhibition of coagulation factors. In order to identify disorders in the coagulation systems in all the patients, two groups of correctional tests were carried out, which were based on APTT - interchangeable test and screening test to identify the presence of inhibitors for coagulation factors. The purpose of the interchangeable tests was to determine the APTT after mixing the test plasma at a ratio of 1:1 with the control (normal) plasma, with the deficient factor FVIII and the deficient FIX plasma separately.

To differentiate the deficit factor with the pathological inhibitors of coagulation system, a screening test on inhibitors was carried out: the APTT mix was compared with normal plasma and test plasma at a ratio of 1:1, when the components were incubating separately (mix 1), and as a 1:1 mixture of the test and normal plasma at 37 °C for 60 minutes (mix 2). To determine the inhibitor type we analyzed the availability of correction in mix 1 and mix 2 and assessed the accuracy of the difference in indicators within the group. All the patients underwent the diagnosis specification tests (FVIII, FIX, von Willebrand factor (vWF:Rco), quantity measurement of inhibitor titres and lupus anticoagulant presence).

Results and discussion: Among 61 patients with hemorrhagic syndrome and isolated prolonged APTT 34,4 % were diagnosed with hemophilia A, 11,5 % with hemophilia B, 13,1 % with hemophilia A with inhibitor of blood coagulation factor VIII, 6,5 % with acquired hemophilia A, 1,6 % with acquired hemophilia B, 4,9 % with von Willebrand disease and 27,9 % with anti-phospholipid syndrome (APS). The algorithm which includes combining two types of correctional tests, mixing tests and pathological coagulation inhibitor screening test was developed for laboratory diagnostics of coagulopathies. Firstly mixing tests are carried out in patients with hemorrhagic syndrome and isolated prolonged APTT. The correction of the clotting time after mixing the test plasma with the normal plasma indicates the deficit of clotting factors and absence of the immediate autoimmune type II inhibitor. After normalization of APTT with the deficient FVIII plasma one should proceed assay of FIX and after nor-

malization with the deficient FIX plasma - with the assay of FVIII and vWF:Rco. In case of correction of all the interchangeable probes it's vital to indicate the FXI activity because it is present in normal, deficient FVIII and deficient FXI plasma. Low level FVIII shows presence of hemophilia A, FVIII and/or vWF:Rco – presence of von Willebrand disease (I, III type), FIX – presence of hemophilia B, F XI – presence of hemophilia C. Little or no correction of prolonged APTT in all three interchangeable probes allows us to suspect with the high probability type II inhibitor (acquired against clotting factors or LA). In this case suspicion on resistance to a replacement therapy in patients with hemophilia A, B it is advisable to proceed with the second group of correctional tests-screening test on inhibitors. The difference between the two mixes is > 2 sec and the correction in mix 1 and mix 2 is absent shows the influence of the immediate type II inhibitor of the clotting system. Further differential diagnostics is based on LA identification, which can suppress phospholipid-dependent coagulation reactions. It's a well-known fact that LA is hardly ever accompanied by bleedings, which allows to clinically differentiate LA from spontaneous inhibitors with immune coagulopathy, which is accompanied by life threatening bleedings. In case LA is negative it is advisable to proceed with the assay FVIII, FIX, FX. If the level of one of the factors is low it is necessary to identify the quantity of inhibitor antibodies. Inhibitor titre > 0.6 BU/ml indicates the presence of acquired immune coagulopathy.

Conclusions. The researched algorithm, which corresponds to the needs of a specialized coagulative laboratory, allows diagnosing the deficit of factors, the differentiation of the progressive type I alloimmune inhibitor with immediate autoimmune type II inhibitor and a decrease in the time of diagnosis specification.

Keywords: hemophilia, inhibitor, APTT, acquired immune coagulopathy, lupus anticoagulant, diagnostic algorithm.

Corresponding author: valeriya-krasi@ukr.net

Резюме

**В. В. Красівська,
О. В. Стасишин,**

Державна установа «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», вул. Генерала Чупринки, 45, м. Львів, Україна, 79044

ДІАГНОСТИКА ВРОДЖЕНИХ ТА НАБУТИХ ГЕМОРАГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ В ОСІБ З ІЗОЛЬОВАНИМ ПРОДОВЖЕНИМ АКТИВОВАНИМ ЧАСТКОВИМ ТРОМБОПЛАСТИНОВИМ ЧАСОМ ЗА ДОПОМОГОЮ ЛАБОРАТОРНОГО АЛГОРИТМУ

З метою розроблення алгоритму лабораторної діагностики розладів коагуляційного гемостазу і встановлення причини підвищеної схильності до кровотеч у 61 хворого з геморагічним синдромом було виконано скринінгові, 2 групи корекційних тестів (замінні проби, скринінговий тест на наявність інгібіторів до факторів згортання) та тести для уточнення діагнозу. Серед обстежених пацієнтів з ізольованим продовженим активованим частковим тромбопластиновим часом (АЧТЧ) у 34,4 % було діагностовано гемофілію А, у 11,5 % – гемофілію В, у 13,1 % – гемофілію А з інгібітором до фактора згортання VIII (ФVIII), у 6,5 % – набуту гемофілію А, у 1,6 % – набуту гемофілію В, у 4,9 % – хворобу Віллебранда, у 27,9 % – антифосфоліпідний синдром (АФС). За результатами досліджень розроблено алгоритм лабораторної діагностики порушень гемостазу, який відповідає потребам спеціалізованої коагулологічної лабораторії. При ізольованому продовженому АЧТЧ необхідно перейти до виконання замінних корекційних проб. У разі відсутності нормалі-



зації АЧТЧ при доданні дефіцитної за ФVІІІ плазми можна проводити визначення ФVІІІ, при недостатній нормалізації з дефіцитною за ФІХ плазмою – до визначення ФІХ. У разі відсутності будь-якої корекції продовженого часу згортання необхідно перейти до виконання якісного скринінгового тесту на інгібітори. Комбінування двох видів корекційних тестів – замічних проб на змішування та якісного тесту на наявність патологічних інгібіторів згортання, дозволяє значно скоротити час до встановлення діагнозу, діагностувати дефіцит факторів та диференціювати прогресивний алоімунний інгібітор І типу з негайним аутоімунним інгібітором ІІ типу.

Ключові слова: гемофілія, інгібітор, АЧТЧ, набута імунна коагулопатія, вовчаковий антикоагулянт, алгоритм діагностики.

Резюме

**В. В. Красивская,
А. В. Стасишин,**

*Государственное учреждение
«Институт патологии крови и
трансфузионной медицины
НАМН Украины», ул. Генерала
Чупринки, 45, г. Львов, Украина,
79044*

ДИАГНОСТИКА ВРОЖДЕННЫХ И ПРИОБРЕТЕННЫХ ГЕМОРАГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЛИЦ С ИЗОЛИРОВАННЫМ УДЛИНЕННЫМ АКТИВИРОВАННЫМ ЧАСТИЧНЫМ ТРОМБОПЛАСТИНОВЫМ ВРЕМЕНЕМ С ПОМОЩЬЮ ЛАБОРАТОРНОГО АЛГОРИТМА

С целью разработки алгоритма лабораторной диагностики расстройств коагуляционного гемостаза и установления причины повышенной склонности к кровотечениям в 61 больного с геморрагическим синдромом было выполнено скрининговые, 2 группы коррекционных тестов (заменные пробы, скрининговый тест на наличие ингибиторов к факторам свертывания) и тесты для уточнения диагноза. Среди обследованных пациентов с изолированным удлинённым активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ) у 34,4 % была диагностирована гемофилия А, у 11,5 % – гемофилия В, у 13,1 % – гемофилия А с ингибитором к фактору свертывания VIII (ФVІІІ), у 6,5 % – приобретенная гемофилия А, у 1,6 % – приобретенная гемофилия В, у 4,9 % – болезнь Виллебранда, в 27,9 % – антифосфолипидный синдром (АФС). По результатам исследований разработан алгоритм лабораторной диагностики нарушений гемостаза, который отвечает потребностям специализированной коагулологической лаборатории. При изолированном удлинённом АЧТВ необходимо перейти к выполнению заменных коррекционных проб. В случае отсутствия нормализации АЧТВ при добавлении дефицитной по ФVІІІ плазмы можно проводить определение ФVІІІ, при недостаточной нормализации с дефицитной по ФІХ плазмой – к определению ФІХ. В случае отсутствия любой коррекции удлинённого времени свертывания необходимо перейти к выполнению качественного скринингового теста на ингибиторы. Комбинирование двух видов коррекционных тестов – заменных проб на смешивание и качественного теста на наличие патологических ингибиторов свертывания, позволяет значительно сократить время установления диагноза, диагностировать дефицит факторов и дифференцировать прогрессивный аллоимунный ингибитор І типа с неотложным аутоиммунным ингибитором ІІ типа.

Ключевые слова: гемофилия, ингибитор, АЧТВ, приобретенная иммунная коагулопатия, волчаночный антикоагулянт, алгоритм диагностики.

Автор, відповідальний за листування: valeriya-krasi@ukr.net



Вступ

В клінічній практиці часто трапляються випадки, коли за медичною допомогою звертаються пацієнти з підвищеною схильністю до кровотеч, в коагулограмі яких виявляють лише зростання активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ). Цей показник характеризує стан внутрішнього шляху згортання крові, його ізольоване продовження спостерігається при дефіциті плазмових факторів VIII (ФVIII), IX (ФIX), XI (ФXI) та за наявності патологічних інгібіторів системи згортання [1–5]. Нейтралізуючі інгібітори до дефіцитного фактора можуть виникати у хворих на вроджену гемофілію А і В у відповідь на замісну трансфузійну терапію і викликати резистентність до лікування [6]. Як аутоімунне ускладнення антитіла до факторів згортання можуть розвиватись у осіб без вродженого дефіциту прокоагулянтів і спричиняти тяжкі небезпечні для життя кровотечі. Це захворювання одержало назву набутої імунної коагулопатії або набутої гемофілії [7–11]. Також ізольоване продовження АЧТЧ спостерігається у хворих з вовчаковим антикоагулянтом (ВА), який є лабораторною ознакою антифосфоліпідного синдрому (АФС), що може супроводжуватися тромбоеморагічними проявами [12]. Діагностика цих геморагічних захворювань має вирішальне значення для вибору тактики лікування пацієнта, оскільки застосовуються висококоартисні препарати [6, 8–11, 13]. З метою встановлення причини кровотеч та скорочення часу до встановлення діагнозу багатьма авторами було розроблено алгоритми лабораторної діагностики геморагічних захворювань [8–11]. Переважно вони ґрунтуються на послідовному виконанні скринінгових тестів, корекційних проб на основі продовженого АЧТЧ та тестів, що уточнюють діагноз. Літературних даних щодо алгоритму, який би містив комбінації двох видів корекційних тестів на основі АЧТЧ, ми не виявили. Вже запропоновані алгоритми не завжди є чіткими, повними та адаптованими до практичних потреб, також не існує міжнародного консенсусу щодо черговості діагностичних тестів. Із метою розроблення алгоритму лабораторної діагностики розладів коагуляційного гемостазу і встановлення причини підвищеної схильності до кровотеч у хворих з геморагічним синдромом було виконано скринінгові, 2 групи корекційних тестів та тести для уточнення діагнозу.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був 61 хворий зі скаргами на геморагічний

синдром (41 чоловік, 20 жінок) віком від 6 міс. до 63 років (медіана 23,0 (0,5–63,0) [10,0–34,0] роки), які звернулись до ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» для встановлення діагнозу. Всім хворим було виконано загальноклінічне обстеження, лабораторні та коагулологічні дослідження. Для загального оцінювання стану системи гемостазу виконували скринінгові тести: протромбіновий час (ПЧ) з розрахунком протромбінового індексу (ПІ), тромбіновий час (ТЧ), активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) з розрахунком індексу АЧТЧ ($I_{\text{АЧТЧ}}$) як співвідношення часу згортання у дослідній плазмі до часу згортання у контрольній плазмі [2–4]. Також визначали вміст фібриногену та проводили оцінювання агрегації тромбоцитів під дією агоніста аденозиндифосфорної кислоти (АДФ). Всім хворим підраховували кількість тромбоцитів за стандартною методикою [2–4]. Після збирання попереднього анамнезу та нормальних показників у тесті ТЧ в усіх пацієнтів було виключено вплив гепарину на систему згортання.

До дослідження та аналізу даних ми включили хворих з ізольованим продовженим АЧТЧ та $I_{\text{АЧТЧ}} > 1,2$, що свідчить про розлади внутрішнього механізму системи тромбогенезу внаслідок дефіциту або інгібіції факторів згортання крові.

Для ідентифікації порушень у внутрішній системі згортання всім пацієнтам було проведено 2 групи корекційних тестів на основі АЧТЧ – замінні проби та скринінговий тест на наявність інгібіторів до факторів згортання. Замінні проби полягали у визначенні АЧТЧ при змішуванні досліджуваної плазми у співвідношенні 1:1 з контрольною (нормальною) плазмою, дефіцитною за фактором ФVIII та дефіцитною за ФIX плазмою окремо [2–4]. Використовували комерційні дефіцитні плазми відомих виробників реагентів для дослідження гемостазу. Для кожного хворого розраховували корекцію як 50 % різницю (вкорочення) між АЧТЧ досліджуваної та контрольної плазми [3]. Якщо значення різниці між одержаною та розрахованою корекцією (РК) було від'ємним, таку корекцію вважали відсутньою або недостатньою.

Для диференціації дефіциту фактора з патологічними інгібіторами системи згортання та її окремих факторів проводили скринінговий тест на інгібітори – порівнювали АЧТЧ суміші досліджуваної і нормальної плазми у співвідношенні 1:1, коли компоненти інкубувалися пара-



лельно (1 суміш), з часом згортання після інкубації досліджуваної і нормальної плазми у співвідношенні 1:1 впродовж 1 год при 37 °С (ступінь доказовості 1b, градація А) [13, 15]. Позитивним результатом вважали різницю більше ніж від 2 с, що становить 10 % від часу в 1 суміші [16]. Для з'ясування типу інгібітора ми аналізували наявність корекції в 1 суміші та 2 суміші [3, 4, 8, 9–11]. З цієї ж метою одночасно оцінювали достовірність різниці між показниками в групі.

Для уточнення діагнозу усім хворим за одностадійною методикою визначали активність факторів згортання ФVIII і IX, ристоміцин – кофакторну активність фактора Віллебранда (vWF:Rco), Бетезда методом інгібітори до ФVIII і ФIX [2–4, 15, 17, 18] та проводили діагностику вовчакового антикоагулянту (ВА) відповідно до міжнародних критеріїв [12, 19, 20].

Контрольну групу для визначення нормальних коагулологічних показників становили 50 здорових осіб (25 чоловіків і 25 жінок середнього віку), які не приймали жодних ліків.

Статистичне оброблення матеріалу виконували за допомогою пакетів прикладних програм STATISTICA for Windows V 10,0 (Statsoft, USA). Порівняння показників між групами здійснювали за допомогою критерію Манна – Уїтні та подавали їх як медіану, мінімум, максимум, нижній – верхній квартилі. Достовірність одержаних результатів оцінювали на рівні достовірності не менше 95 % ($p < 0,05$).

Результати дослідження та обговорення. За результатами обстеження всіх хворих було поділено на 5 груп (табл. 1). До I групи ми віднесли 21 хворого на гемофілію А без інгібіторних антитіл до дефіцитного фактора згортання (34,4 %), до II групи – 7 хворих на гемофілію В без інгібіторів (11,5 %), до III групи – 8 хворих на гемофілію А з інгібітором ФVIII (13,1 %), до IV – 4 хворих із набутою імунною коагулопатією (набутою гемофілією А) (6,5 %), до V – 17 хворих із первинним та вторинним антифосфоліпідним синдромом (АФС) (27,9 %). Одну хвору на набуто гемофілію В (1,6 %) та 3 хворих на хворобу Віллебранда (4,9 %) ми не включили до статистичного аналізу у зв'язку з малою кількістю досліджуваних. У зв'язку з тим, що набута гемофілія є дуже рідкісним захворюванням, у результатах дослідження ми окремо описуємо показники хворої на імунну коагулопатію з інгібіторними антитілами до ФIX.

За загальним оцінюванням системи гемостазу (табл.1) ПЧ у хворих I, III і IV груп не відрізняється від відповідного показника контрольної групи, у всіх випадках $p > 0,05$. Достовірної різниці показника ПІ між групами та порівняно з контролем ми не встановили, у всіх випадках $p > 0,05$. У всіх досліджуваних групах хворих з геморагічним синдромом ми виявили достовірне зростання АЧТЧ та його розрахункового індексу ($I_{\text{АЧТЧ}}$) більше ніж у 1,2 раза ($p < 0,000$). Порівняно з контролем у всіх обстежених I–V груп ТЧ час знаходиться в межах норми (у всіх випадках $p > 0,05$), що виключає вплив на систему згортання гепарину.

Порівняно із здоровими особами (медіана 3,3 (2,1–4,0) [2,8–3,5] г/л) при інгібіторній формі гемофілії А (III група) та у хворих V групи вміст фібриногену є дещо знижений і становить 2,6 (2,0–3,3) [2,5–2,9] г/л; ($p = 0,012$) та 2,4 (1,8–3,0) [2,0–2,8] г/л; ($p < 0,000$) відповідно. У всіх інших пацієнтів вміст фібриногену знаходиться в межах норми. У хворих V групи агрегаційна здатність тромбоцитів та їх кількість є достовірно зниженими ($p < 0,000$) порівняно з нормою та хворими I–IV груп і становить 20,5 (14,0–26,0) [18,4–23,0] с та 188,5 (124,0–254,0) [156,0–215,0] $\times 10^9$ /л відповідно. Незначна тромбоцитопенія при АФС не досягає загальноприйнятої межі $< 150 \times 10^9$ /л, тому геморагічні прояви у цих пацієнтів ми не пов'язували із дисфункцією тромбоцитів. При подальшому спостереженні у хворих V групи було встановлено інші причини кровоточивості, які не були обумовлені порушеннями у системі гемостазу.

У хворої на набуто гемофілію В показники скринінгових тестів були такими: ПЧ – 17 с (ПІ = 85,9 %), АЧТЧ – 50,2 с ($I_{\text{АЧТЧ}} = 1,59$), ТЧ – 16,7 с, фібриноген – 2,75 мг/мл, агрегація тромбоцитів з АДФ – 10 с, кількість тромбоцитів 150×10^9 /л. Ізольоване продовження АЧТЧ у обстежених хворих (ПЧ, фібриногені і ТЧ в нормі) може свідчити про зниження вмісту або активності плазмових факторів VIII, IX, XI, XII, фактора Віллебранда, прекалікреїну та високомолекулярного кініногену, наявність інгібітора фактора згортання (найчастіше до ФVIII та ФIX) або ВА [1–5]. Важливо відзначити, що дефіцит будь-якого з факторів контактної активації (прекалікреїну, високомолекулярного кініногену та ФXII) призводить до зростання АЧТЧ, але не пов'язаний з геморагічними проявами [2, 3].

Для ідентифікації порушень у коагуляційно-му гемостазі ми проводили замісні корекційні



Таблиця 1 – Показники скринінгових тестів системи згортання у хворих з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим активованим частковим тромбoplastинним часом (АЧТЧ)

Показник	I група, хворі на гемофілію А <i>n</i> = 21	II група, хворі на гемофілію В <i>n</i> = 7	III група, хворі на гемофілію А з інгібітором <i>n</i> = 8	IV група, хворі на набуту гемофілію А <i>n</i> = 4	V група, хворі з АФС <i>n</i> = 17	Контрольна група, <i>n</i> = 50
Протромбіновий час (ПЧ), с	16,3 (13,7–19,8) [14,7–17,4]	16,3 (13,4–21,0) [15,3–19,8]#	15,6 (12,5–17,8) [14,8–16,3]	15,2 (14,0–16,0) [14,6–15,6]*	16,4 (15,2–17,0) [15,7–16,8]#	14,4 (12,2–17,2) [13,7–15,7]
Протромбіновий індекс (ПІ), %	97,0 (82,0–108,0) [86,0–100,0]	89,5 (71,0–96,0) [83,3–94,0]	93,4 (87,1–103,4) [89,8–96,4]	94,4 (92,5–100,0) [93,0–97,7]	92,0 (85,0–100,0) [89,0–95,5]	93,7 (80,0–108,0) [86,0–99,5]
АЧТЧ, с	76,4 (49,3–126,0) [69,2–89,0] #*	73,0 (52,0–90,6) [60,6–87,6]#*	68,8 (52,7–76,6) [63,5–70,0]#*	76,5 (38,0–79,0) [56,5–78,5]#*	38,4 (34,7–77,0) [36,1–45,0]#*	30,0 (25,8–33,8) [28,6–31,4]
I _{АЧТЧ}	2,7 (1,6–4,5) [2,4–3,0]#*	2,6 (1,6–3,0) [1,9–2,9]#*	2,3 (1,7–2,6) [2,2–2,6] #*	2,5 (1,2–2,5) [1,8–2,5]#*	1,33 (1,2–2,8) [1,3–1,5]#*	1,0 (0,8–1,2) [0,9–1,0]
Тромбіновий час (ТЧ), с	16,4 (15,3–17,2) [15,9–16,9]*	16,6 (15,4–17,6) [15,8–17,0]	16,2 (15,2–17,6) [15,8–17,1]	15,3 (15,3–16,0) [15,4–15,8] #*	16,4 (15,5–17,2) [15,8–16,8]*	16,4 (15,3–17,6) [15,8–16,9]
Вміст фібриногену, г/л	2,8 (1,0–4,0) [2,5–3,3]	3,0 (2,0–4,0) [2,8–3,5]*	2,6 (2,0–3,3) [2,5–2,9]#*	3,3 (2,9–4,0) [3,1–3,6]*	2,4 (1,8–3,0) [2,0–2,8]#*	3,3 (2,1–4,0) [2,8–3,5]
Агрегаційна функція тромбоцитів, с	16,0 (12,2–22,6) [14,2–17,0]*	17,7 (12,8–19,4) [14,2–19,2]*	16,0 (14,0–20,0) [14,7–17,5]*	14,5 (10,4–26,0) [12,3–20,6]*	20,5 (14,0–26,0) [18,4–23,0]#*	15,4 (12,0–18,0) [14,1–16,3]
Кількість тромбоцитів, ×10 ⁹ /л	220,0 (170,0–344,0) [187,0–320,0]*	230,0 (196,0–245,0) [205,0–243,0]*	216,0 (197,0–268,0) [201,5–234,0]#*	231,0 (185,0–255,0) [204,0–246,0]*	188,5 (124,0–254,0) [156,0–215,0]#*	253,0 (194,0–305,0) [225,0–285,0]

Примітки: 1. Показники подано як «медіана (мінімум – максимум) [нижній – верхній кuartилі]».

2. I_{АЧТЧ} – індекс АЧТЧ, розраховується як співвідношення часу згортання у дослідній плазмі до часу згортання у контрольній плазмі.

3. # – Різниця з показником контрольної групи значуща ($p < 0,05$).

4. * – Різниця між відповідними показниками у групах хворих значуща ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Показники корекційних тестів у хворих з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим активованим частковим тромбопластиновим часом (АЧТЧ)

Показник	I група, хворі на гемофілію А n = 21	II група, хворі на гемофілію В n = 7	III група, хворі на гемофілію А з інгібітором n = 8	IV група, хворі на набуту гемофілію А n = 4	V група, хворі з АФС n = 12	Контроль-на група, n = 50
РК, с	24,0 (8,9–49,1) [20,6–29,9]*	22,4 (9,1–30,1) [14,5–28,6]*	20,4 (11,2–24,6) [18,2–23,1]*	22,6 (2,9–23,9) [12,6–23,4]*	4,6 (3,1–24,0) [4,1–6,7]*	нв
Корекційний тест на змішування						
З нормальною плазмою, с	33,2 (30,3–40,6) [32,0–36,5]*	31,6 (28,5–37,5) [31,0–36,6]*	41,9 (34,0–70,3) [35,8–54,9]*	53,5 (39,0–60,0) [45,5–57,7]*	33,8 (29,6–42,0) [31,0–37,0]*	нв
Різниця між отриманою та РК, с	20,2 (0,4–39,1) [10,7–23,2]*	19,6 (11,3–25,2) [13,7–24,0]*	5,5 (–16,8–21,0) [–8,4–12,6]*	–3,9 (–9,6–3,1) [–4,9–(–2,2)]*	0,9 (–2,7–14,0) [–0,8–2,4]*	нв
З дефіцитною по ФVIII плазмою, с	82,1 (53,0–101,0) [73,1–89,0]*	37,8 (33,0–39,6) [37,5–38,2]*	86,8 (69,9–101,2) [82,8–91,2]*	69,5 (37,2–91,0) [52,6–81,0]*	38,6 (32,0–49,5) [34,7–43,0]*	нв
Різниця між отриманою та РК, с	–28,5 (–42,8–(–11,6)) [–34,2–(–20,4)]*	12,6 (4,7–23,0) [8,7–22,2]*	–38,1 (–49,7–(–28,4)) [–39,6–(–33,4)]*	–12,9 (–35,9–(–2,1)) [–15,2–(–3,4)]*	–3,8 (–10,5–12,8) [–6,1–(–2,0)]*	нв
З дефіцитною по ФІХ плазмою, с	41,9 (34,4–50,0) [39,4–43,9]*	78,0 (52,5–95,1) [58,8–86,3]*	46,1 (38,0–78,6) [41,6–67,6]*	58,0 (36,4–61,0) [46,7–60,0]*	34,5 (29,4–45,2) [31,2–39,6]*	нв
Різниця між отриманою та РК, с	9,6 (1,4–27,8) [6,0–14,5]*	–24,8 (–29,4–(–7,6)) [–27,3–(–15,9)]*	0,1 (–31,7–17,0) [–15,7–6,8]	–5,9 (–8,8–(–1,3)) [–6,2–(–1,9)]*	–0,2 (–6,2–16,5) [–2,3–1,1]*	нв
Якісний тест на інгібітори						
Різниця між I і II сумішшю, с	0,0 (0,0–2,0) [0,0–0,5]*	0,0 (0,0–1,5) [0,0–0,0]*	9,0 (6,0–32,0) [7,3–19,2]##*	7,0 (5,0–29,4) [6,0–18,2]##*	0,6 (0,0–1,2) [0,3–0,8]*	0,0 (0,0–0,8) [0,0–0,0]
I суміш, с	35,0 (29,0–42,0) [33,0–37,0]*	35,2 (32,4–39,5) [33,7–38,2]*	46,7 (37,0–75,3) [39,3–57,4]*§	63,0 (52,0–69,0) [57,0–66,5]*	35,8 (32,0–44,0) [33,1–39,4]*	нв
Різниця між отриманою та РК, с	19,1 (6,1–46,0) [12,0–27,1]*	16,9 (7,7–22,6) [10,6–19,6]*	0,4 (–21,8–18,0) [–10,9–9,1]*§	–11,6 (–30,9–(–8,9)) [–22,4–(–9,1)]*	–1,1 (–4,8–13,0) [–2,7–(–0,1)]*	нв
II суміш, с	34,0 (29,0–43,0) [33,0–36,7]*	35,2(33,2–39,0) [33,20–38,0]*	58,2 (43,0–107,3) [47,8–72,9]*	73,5 (56,0–91,4) [63,5–83,7]*	37,0 (32,0–44,4) [34,0–40,0]*	нв
Різниця між отриманою та РК, с	19,2 (6,1,0–50,0) [14,8–27,1]*	17,4 (7,7–22,3) [11,4–20,1]*	–11,6 (–53,8–12,0) [–25,9–0,6]*	–20,9 (–38,6–(–15,9)) [–29,8–(–18,8)]*	–1,7 (–6,9–12,2) [–3,0–(–0,3)]*	нв

Примітки: 1. Показники подано як «медіана (мінімум – максимум) [нижній – верхній квантилі]».

2. РК – розрахована корекція, розраховується як 50 % різниці між АЧТЧ хворого і контрольною плазмою.

3. # – Різниця з показником контрольної групи значуща (p < 0,05).

4. * – Різниця між відповідними показниками у групах хворих значуща (p < 0,05).

5. § – Різниця між показниками I і II сумішей у групі значуща (p < 0,05).

6. нв – не визначали.



проби, результати яких наведено у табл. 2. Ми вираховували РК продовженого АЧТЧ, яка становить медіану 24,0 (8,9–49,1) [20,6–29,9] с для хворих I групи, 22,4 (9,1–30,1) [14,5–28,6] с – для II хворих групи, 20,4 (11,2–24,6) [18,2–23,1] с – для III групи, 22,6 (2,9–23,9) [12,6–23,4] с – для пацієнтів IV групи та 4,6 (3,1–24,0) [4,1–6,7] – для хворих з АФС, у яких РК була меншою ніж відповідний показник груп I–IV (у всіх випадках $p < 0,000$). У хворих I–III груп можна запідозрити істинний дефіцит фактора згортання. Про це свідчить наявність корекції продовженого АЧТЧ при змішуванні плазми цих пацієнтів із плазмою здорових осіб 1:1, різниця між отриманою і РК є позитивною і становить 20,2 (0,4–39,1) [10,7–23,2] с, 19,6 (11,3–25,2) [13,7–24,0] с та 5,5 (–16,8–21,0) [–8,4–12,6] с відповідно. Про дефіцит ФVIII у хворих на гемофілію А з інгібітором та без інгібітора свідчить недостатня корекція продовженого часу згортання з дефіцитною за ФVIII (різниця між отриманою та РК –28,5(–42,8–(–11,6) [–34,2–(–20,4)] с та –38,1(–49,7–(–28,4) [–39,6–(–33,4)] відповідно), у якій всі фактори, крім ФVIII, містяться у нормальній кількості. Іншу ситуацію ми спостерігали у хворих на гемофілію В, в яких при змішуванні з дефіцитною за ФІХ плазмою з достатнім вмістом усіх факторів, крім ФІХ, нормалізації АЧТЧ не відбувалося (різниця між отриманою та РК –24,8(–29,4–(–7,6)) [–27,3–(–15,9)] с). Після виконання корекційного тесту на змішування у пацієнтів з відсутністю нормалізації АЧТЧ при доданні дефіцитної за ФVIII плазми зразу можна переходити до визначення вмісту ФVIII. У хворих з від’ємною різницею між отриманою та РК при змішуванні з дефіцитною за ФІХ плазмою подальші кроки можна спрямувати до визначення активності ФІХ. На нашу думку, досліджувати рівень усіх факторів, знижений вміст яких може викликати продовження АЧТЧ, не має потреби. Можна визначати активність лише тих факторів, про дефіцит яких свідчать результати тестів на змішування. Така раціоналізація може скоротити час на встановлення діагнозу та витрати на реактиви.

У корекційному тесті у хворих на імунну коагулопатію та хворих з АФС у всіх трьох тестах на змішування різниця між отриманою і РК є від’ємною ($p < 0,05$), що свідчить про відсутність або недостатню нормалізацію АЧТЧ (табл. 2). Достовірних відмінностей показників різниці між отриманою та РК у групах хворих

на набуту гемофілію А та хворих з АФС не виявлено ($p > 0,05$). Аналогічні до хворих IV групи результати скринінгового тесту ми спостерігали у пацієнтки з набутими антитілами до ФІХ: РК 9,4 с, корекція продовженого АЧТЧ з нормальною плазмою 50,4 с (різниця між отриманою та РК від’ємна – –0,2 с), корекція з дефіцитною за ФVIII плазмою 44,2 с (різниця між отриманою та РК від’ємна – –3,4 с), корекція з дефіцитною за ФІХ плазмою 49,6 с (різниця між отриманою та РК від’ємна – –8,8 с). Одержані результати можуть свідчити про те, що у пацієнтів цих двох груп можна запідозрити негайний патологічний інгібітор згортання, активність якого не залежить від часу та температури. Загалом патологічні інгібітори класифікують на основі їх кінетики або здатності до прогресивної інактивації фактора згортання. Розрізняють 2 моделі кінетичних реакцій та відповідно два типи інгібіторів. Інгібітори II типу (негайні) діють за складною комплексною кінетикою II порядку, є аутоантитілами, характеризуються імунною нейтралізацією циркулюючого ендогенного (власного) фактора згортання і можуть виникати у осіб без спадкових геморагічних захворювань та спричиняти тяжкі, часто неконтрольовані кровотечі. Таке захворювання одержало назву набутої (аутоімунної) гемофілії або імунної коагулопатії. Найчастіше виникають аутоантитіла до ФVIII та ФІХ, хоча відомі рідкісні випадки виникнення набутих інгібіторів до інших прокоагулянтів. Як правило, такі аутоантитіла мають нелінійну інактивацію зі швидкою початковою фазою інактивації, за якою настає повільна фаза. Ці інгібітори не повністю інактивують ФVIII, навіть у разі найвищої концентрації у плазмі. Існує погана кореляція між рівнем ФVIII, титром інгібітора та тяжкістю кровотеч, оскільки ці аутоантитіла зберігають здатність до додаткової нейтралізації фактора згортання [1–3, 8–11]. Подібну картину невідповідності між активністю ФVIII або ФІХ, яка не знижувалася менше 15,0 %, та тяжкістю кровотеч ми і спостерігали у хворих на набуту імунну коагулопатію. Антифосфоліпідні антитіла (АФЛА), зокрема ВА, теж є аутоантитілами, які завдяки високій спорідненості до фосфоліпідів під час взаємодії з білком-кофактором утворюють бівалентні комплекси і перешкоджають процесам згортання на каталітичній поверхні, що призводить до порушення функціонування системи згортання [1–3, 7–11, 12]. Їх теж відносять до інгібіторів II типу,



які мають негайний початок реакції та не залежать від часу та температури.

Результати другого корекційного тесту, який застосовують як якісний тест на наявність інгібіторів та диференціації дефіциту фактора з різними типами патологічних інгібіторів системи згортання, подано у табл. 2. У пацієнтів I, II і V груп різниця часу згортання між 1-ю і 2-ю сумішами у тесті АЧТЧ становить < 2 с, що свідчить про відсутність інгібіторних антитіл до факторів згортання. У хворих III і IV груп скринінговий тест на інгібітори є позитивним, медіана різниці між сумішами достовірно більша, ніж у хворих I, II, V груп та здорових осіб, і становить 9,0 (6,0–32,0) [7,3–19,2] с та 7,0 (5,0–29,4) [6,0–18,2] с відповідно; у всіх випадках $p < 0,000$. У пацієнтки з інгібіторами до ФІХ різниця між 1-ю і 2-ю сумішами становила 10 с.

У хворих на гемофілію А та В без інгібіторів продовжений АЧТЧ приходить до норми як без інкубації, так і після (різниця між розрахованою та РК була позитивною), оскільки нормальна плазма є джерелом ФVІІІ та ФІХ. Це доповнює результати корекційних тестів, які свідчать про істинний дефіцит фактора згортання та відсутність будь-якої інгібіції. В III групі хворих у 1 суміші наявна корекція (різниця між отриманою та РК 0,4 (–21,8–18,0) [–10,9–9,1] с), а у 2 – відсутня (–11,6 (–53,8–12,0) [–25,9–0,6] с), відмінність між показниками в групі є достовірною ($p_{1-2} = 0,004$). Такі результати можуть свідчити про наявність специфічних нейтралізуючих інгібіторів ФVІІІ у хворих III групи (табл. 2). У хворих із вродженими коагулопатіями (переважно на гемофілію А або В) на фоні замісної трансфузійної терапії можуть виникати специфічні інгібіторні антитіла, викликаючи явища резистентності до цієї терапії. Вважають, що такі інгібітори є високоафінними поліклональними, переважно алоантитілами, які специфічно нейтралізують прокоагулянтну активність екзогенного (лікувального) фактора згортання. Це є прогресивні інгібітори I типу (що залежать від часу та температури), які діють за простою кінетикою I порядку. У такому типі інактивація ФVІІІ лінійно залежить від концентрації антитіл та за наявності інгібітора фактор згортання повністю нейтралізується [1–3, 8, 9, 15, 17, 18]. У хворих на гемофілію з інгібітором фактор, який надійшов до суміші, за час інкубації був нейтралізований специфічними антитілами, та продовжений АЧТЧ не нормалізувався.

У пацієнтів IV та V груп відсутність корекції у 1-й і 2-й сумішах (від'ємна різниця між реальною та РК) свідчить про наявність негайного інгібітора II типу (табл. 2). Аутоімунні антитіла у хворих на набуту гемофілію негайно нейтралізують фактори, які надходять із нормальної плазмою, та у випадку ВА відбувається пригнічення фосфоліпід- залежних реакцій згортання.

Результати тестів для уточнення діагнозу наведено у таблиці 3. У хворих I та III груп рівень ФVІІІ є достовірно нижчим, ніж у контрольній групі, у хворих II, IV та V груп ($p < 0,000$, $p_{I-II} < 0,000$, $p_{I-IV} = 0,007$, $p_{I-V} < 0,000$). Значущої різниці між показниками ФVІІІ у хворих на гемофілію А з інгібітором та без інгібітора не виявлено, $p_{I-III} = 0,084$. У хворих IV групи рівень ФVІІІ є зниженим і становить 15,0 (0,5–50,0) [4,8–35,5] %, різниця з відповідними показниками контрольної групи значуща; $p < 0,05$. Порівняно зі здоровими особами пацієнти V групи мають нормальний рівень ФVІІІ; $p = 0,739$. При визначенні активності ФІХ його вміст достовірно знижений лише у хворих II групи і становить 2,3 (1,3–16,8) [1,5–5,0]; $p < 0,000$. Порівняно зі здоровими особами, у всіх інших пацієнтів рівень ФІХ перебуває в межах норми. $vWF:Rco$ у всіх обстежених хворих не відрізняється від відповідного показника контрольної групи або є навіть вищим (табл. 3). При кількісному визначенні підвищений вміст титру інгібітора встановлено у пацієнтів III та IV груп 18,4 (1,2–132,0) [6,5–46,6] БО та 19,6 (11,0–251,0) [14,5–136,1] відповідно; у всіх випадках $p < 0,000$. У хворих I, II та V груп інгібіторних антитіл не виявлено. Наявність ВА діагностовано у хворих з АФС (V група), у інших обстежених групах антифосфоліпідної активності не спостерігалось.

У хворої на набуту гемофілію В рівень ФІХ був зниженим до 50,0 % при титрі інгібіторних антитіл до ФІХ 13 БО. Активність ФVІІІ та $vWF:Rco$ була в межах норми і становила 115,0 та 127,0 % відповідно. ВА виявлено не було.

Грунтуючись на результатах досліджень, ми розробили алгоритм лабораторної діагностики розладів у системі гемостазу у хворих з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим АЧТЧ, який ми апробували і використовуємо у нашій повсякденній практиці (рис. 1). У хворих з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим АЧТЧ (ПЧ, ТЧ, вміст фібриногену в нормі) спочатку виконують першу групу корекційних тестів. Корекція порушеного часу згортання при змішуванні досліджуваної плазми з



Таблиця 3 – Показники тестів, що уточнюють діагноз у хворих з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим активованим частковим тромбопластиновим часом (АЧТЧ)

Показник	I група, хворі на гемофілію А <i>n</i> = 21	II група, хворі на гемофілію В <i>n</i> = 7	III група, хворі на гемофілію А з інгібітором <i>n</i> = 8	IV група, хворі на набуту гемофілію А <i>n</i> = 4	V група, хворі з АФС <i>n</i> = 12	Контрольна група, <i>n</i> = 50
Рівень фактора VIII, %	2,8 (0,2–24,0) [1,3–6,3]##*	106,0 (80,0–140,0) [100,0–140,0]*	0,6 (0,2–1,9) [0,3–1,5]##*	15,0 (0,5–50,0) [4,8–35,5]##*	95,8 (14,0–235,0) [48,0–145,0]	100,0 (81,0–124,0) [96,0–115,0]
Рівень фактора IX, %	84,0 (64,8–124,0) [67,4–111,0]*	2,3 (1,3–16,8) [1,5–5,0]##*	105,0 (48,3–142,0) [91,5–119,5]	90,5 (55,0–115,0) [69,5–106,0]	97,5 (27,0–146,0) [79,0–103,0]	100,0 (68,0–124,0) [90,0–115,0]
vWF:Rco, %	98,0 (85,0–190,0) [92,0–105,0]*	98,5 (92,0–125,0) [95,4–125,0]*	106,0 (86,0–125,0) [97,0–113,5]*	153,5 (125,0–168,0) [137,5–162,5]#	118,0 (89,0–165,0) [97,0–143,0] #	96,8 (58,0–147,0) [86,0–115,0]
Титр інгібітора, БО/мл	0,0 (0,0–0,4) [0,0–0,0]*	0,0 (0,0–0,3) [0,0–0,0]*	18,4 (1,2–132,0) [6,5–46,6]##*	19,6 (11,0–251,0) [14,5–136,1]##*	0,0 (0,0–0,6) [0,0–0,0]	0,0 (0,0–0,5) [0,0–0,0]
ВА	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Виявлено	Не виявлено

Примітки: 1. Показники подано як «медіана (мінімум – максимум) [нижній – верхній квантілі]».

2.# – Різниця з показником контрольної групи значуща ($p < 0,05$).

3. * – Різниця між відповідними показниками у групах хворих значуща ($p < 0,05$).

4. vWF:Rco – Ристоміцин-кофакторна активність фактора Віллебранда.

5. БО/мл – Бетезда одиниця на 1 мл.

6. ВА – вовчаковий антикоагулянт.



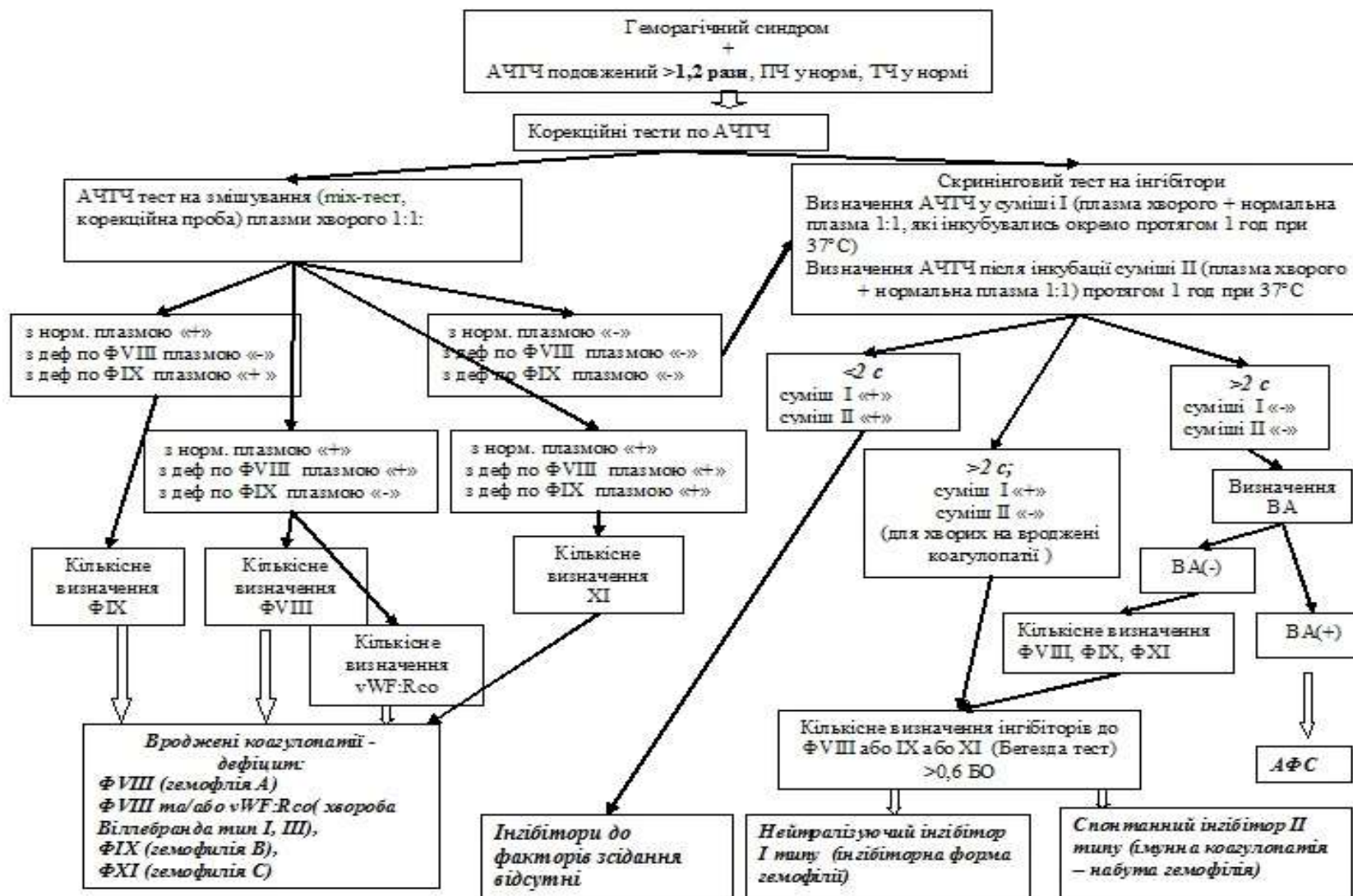


Рис. 5. - Алгоритм лабораторної діагностики порушень у коагуляційному гемостазі при ізольованому подовженні АЧТЧ. «+» та «-» - наявність або відсутність нормалізації подовженого АЧТЧ.



нормальною (співвідношення 1:1) свідчить про дефіцит факторів згортання та відсутність негайного аутоімунного інгібітору II типу. При нормалізації АЧТЧ з дефіцитною за ФVIII плазмою необхідно перейти до визначення активності ФІХ, а при нормалізації з дефіцитною за ФІХ плазмою – до визначення вмісту ФVIII та vWF:Rco. У разі корекції у всіх замісних пробах необхідно визначати активність ФХІ, оскільки він міститься у нормальній, дефіцитній за ФVIII та дефіцитній за ФХІ плазмі. Знижений вміст ФVIII свідчить про наявність гемофілії А, ФVIII та/або vWF:Rco – про наявність хвороби Віллебранда (I, III типу), ФІХ – про наявність гемофілії В, ФХІ – на гемофілію С. Відсутність корекції продовженого АЧТЧ у всіх трьох замісних пробах дозволяє нам з високою вірогідністю запідозрити у пацієнта інгібітор II типу (набутий до фактора згортання або ВА). У такому випадку або підозрі на наявність резистентності до замісної трансфузійної терапії у хворих на гемофілію А, В необхідно перейти до другої групи корекційних тестів – скринінгового тесту на інгібітори (рис. 1). Якщо між АЧТЧ 1-ї суміші (дослідна і нормальна плазма інкубувалися паралельно впродовж 1 год за t 37 °C) та 2-ї суміші (плазми інкубувалися разом) різниця становить < 2 с, інгібіторні антитіла до факторів згортання відсутні і потреби у їх подальшому кількісному визначенні немає. У разі різниці > 2 с, наявності корекції у 1-ї суміші та відсутності нормалізації АЧТЧ 2-ї суміші у хворих на вроджену коагулопатію можна запідозрити наявність специфічного нейтралізуючого інгібітора до дефіцитного фактора згортання I типу. У подальшому необхідно кількісно визначати титр антитіл, зростання вмісту яких $> 0,6$ БО вказує на наявність інгібіторної форми гемофілії.

Різниця між сумішами > 2 с та відсутності корекції як у 1-й так і у 2-й сумішах свідчить про вплив негайного інгібітора II типу на систему згортання. Подальша диференціальна діагностика ґрунтується на виявленні ВА, який може пригнічувати фосфоліпід-залежні коагуляційні реакції. Відомо, що ВА дуже рідко супроводжується кровотечами [1, 4, 5, 12], що дозволяє клінічно віддиференціювати його від спон-

таних інгібіторів при імунній коагулопатії, яка супроводжується загрозливими для життя кровотечами. За наявності ВА та відповідних клінічних проявів (тромбозів, акушерської патології) встановлюється діагноз АФС [12, 19, 20]. У разі від'ємного ВА необхідно перейти до визначення активності ФVIII, ФІХ, ФХ. У подальшому при зниженому рівні одного з факторів кількісно визначають інгібіторні антитіла. Титр інгібітора $> 0,6$ БО свідчить про наявність набутої імунної коагулопатії.

Можливо, описаний алгоритм має деякі недоліки, зокрема, він повною мірою не охоплює діагностику хвороби Віллебранда, яка потребує додаткових досліджень [21, 22]. Ціла низка специфічних методів, які дозволяють встановити тип цього захворювання, не враховані у послідовності, яку ми запропонували. При діагностиці вплив ВА може нагадувати нейтралізуючі інгібітори, перешкоджати їх визначенню, не достовірно знижувати активність факторів згортання, оскільки обидва патологічних інгібітори можуть впливати на той самий шлях згортання [3, 4, 7–11, 12]. Також існують випадки, коли аутоантитіла до ФVIII та ВА наявні одночасно, тому для диференціальної діагностики між цими двома інгібіторами може бути корисним застосування ELISA методу та чутливих і нечутливих до ВА АЧТЧ-реагентів [9–11, 23]. Тому подальші дослідження необхідно спрямувати у бік пошуку нових ефективних методів для ідентифікації різних типів патологічних інгібіторів згортання.

Запропонований алгоритм, який поєднує 2 групи корекційних тестів, за допомогою замісних проб дозволяє зразу перейти до визначення дефіцитного фактора згортання та при застосуванні якісного тесту на інгібітори дозволяє провести первинну диференціальну діагностику дефіциту коагуляційних факторів та патологічних інгібіторів згортання – нейтралізуючих при вродженій гемофілії, спонтанних при імунній коагулопатії (набутій гемофілії) та ВА. Така послідовність тестів може значно зменшити витрату реактивів, скоротити час, затрачений на дослідження та прискорити початок необхідної терапії у хворих з геморагічним синдромом.

Висновки

1. Серед 61 хворого з геморагічним синдромом та ізольованим продовженим активованим частковим тромбопластиновим часом (АЧТЧ) у 34,4 % було діагностовано гемофілію А, у 11,5 %

– гемофілію В, у 13,1 % – гемофілію А з інгібітором до фактора згортання VIII (ФVIII), у 6,5 % – набуто гемофілію А, у 1,6 % – набуто гемофілію В, у 4,9 % – хворобу Віллебранда, у 27,9 % – антифосфоліпідний синдром (АФС).



2. За результатами досліджень у хворих з ізольованим продовженим АЧТГ розроблено алгоритм лабораторної діагностики порушень гемостазу, який включає корекційні тести двох видів та тести, що уточнюють діагноз. Комбінування двох видів корекційних тестів – замінних проб на змішування та якісного тесту на наявність патологічних інгібіторів згортання, дозволяє значно скоротити час до встановлення діаг-

нозу, діагностувати дефіцит факторів та диференціювати прогресивний алоімунний інгібітор І типу з негайним аутоімунним інгібітором ІІ типу.

3. Розроблена послідовність повністю відповідає потребам спеціалізованої коагулологічної лабораторії і може бути рекомендована до впровадження в практичну медицину.

References (список літератури)

1. Krasivska V, Stasyshyn O. [Pathologic inhibitors of hemostasis: distribution, diagnostics, clinical manifestation and treatment]. *Ukr. Med. J.* 2012; 4(90), VII/VIII:162–168.
2. Krasivska V, Stasyshyn O, Novak V. *Laboratorna diagnostyka vrodgenyh gemoragichnyh zahvoruvan* [Laboratory diagnosis of congenital haemorrhagic disease]. Lviv: RVA Triumph Publ., 2014. 71 p.
3. Kitchen S, McCraw A. *Diagnosis of haemophilia and other bleeding disorders: A laboratory manual*. 1st. Montreal: WFH, 2000. 108 p.
4. Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. *Diagnosis of haemophilia and other bleeding disorders: A laboratory manual*. 2nd. Montreal: WFH, 2010. 144 p.
5. McCraw A, Hillarp A, Echenagucia M. Considerations in the laboratory assessment of haemostasis. *Haemophilia*. 2010;16(5):74–78. doi: 10.1111/j.1365-2516.2010.02302.x.
6. Van Den Berg HM. Epidemiological aspects of inhibitor development redefinethe clinical importance of inhibitors. *Haemophilia*. 2014;20(4):76–79. doi: 10.1111/hae.12404.
7. Collins P, Persy C. Advances in the understanding of acquired haemophilia A: implication for clinical practice. *Br. J. Haematol.* 2009;148(2):183–194. doi:10.1111/j.1365-2141.2009.07915.x.
8. Collins P, Baudo F, Huth-Kihne A, Ingerslev J, Kessler CM, Castellano MEM, Shima M, St-Louis J, Lévesque H. Consensus, recommendations for the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *BMC Research Notes*. 2010;3:161 - 168. doi:10.1186/1756-0500-3-161.
9. A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization (UKHCDO) guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology Collins PW, Chalmers E, Hart D, Jennings I, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, Williams M, Hay CRM. Diagnosis and management of acquired coagulation inhibitors: a guideline from UKHCDO. *Br.J. Haematol.* 2013;162(3):758–731. doi: 10.1111/bjh.12463.
10. Mulliez SMN, Vantilborgh A, Devreese, KMJ. Acquired hemophilia: a case report and review of the literature. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2014; 36 (3):398–407. doi:10.1111/ijlh.12210.
11. Sborov DW, Rodgers GM. How I manage patients with acquired haemophilia A. *Br. J. Haematol.* 2013;161(2):157–165. doi:10.1111/bjh.12228.
12. Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M and British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br. J. Haematol.* 2012;157(1):47–58. doi:10.1111/j.1365-2141.2012.09037.x.
13. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, Ludlam CA, Mahlangu JN, Mulder K, Poon MC, Street A, Treatment Guidelines Working Group on Behalf of The World Federation Of Hemophilia. Guidelines for the management of hemophilia (2nd). *Haemophilia*. 2013;19(1):e1-47. doi: 10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x.
14. Kottke-Marchant K. Algorithmic Approaches to Hemostasis Testing. *Semin. Thromb. Hemost.* 2014;40(02):195-204. doi: 10.1055/s-0033-1364187.
15. Collins P, Chalmers E, Hart D, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, Williams M, Hay CR. Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia:



- (4th). *Br. J. Haematol.* 2013;160(2):153 - 170. doi:10.1111/bjh.12091.
16. Krasivska V, Stasyshyn O. Rol skryningovogo testu u diagnostyци ingibitoriv do faktora VIII(IX) u hvoryh na gemophiliiu [The role of screening test in the diagnosis of inhibitors to factor VIII (IX) in hemophilia patients]. *Circulation and haemostasis.* 2015;1/2:49-53.
 17. Favaloro EJ, Verbruggen B, Miller CH. Laboratory testing for factor inhibitors. *Haemophilia.* 2014;20(4):94–98. doi: 10.1111/hae.12408.
 18. Kasper C, Aledort L, Counts R, Edron J, Fratantoni J, Green D, Hampton J, Hilgartner M, Laserson J, Levine P, MacMillan, C, Pool J, Shapiro S, Shulman N, Eys J. Measurement of factor VIII inhibitors. *Thromb.Diath. Hemorrhagica.* 1975;34:869 - 872.
 19. Chantarangkul V, Biguzzi E, Asti D, Palmucci C, Tripodi A. Laboratory diagnostic outcome applying detection criteria recommended by the Scientific and Standardization Committee of the ISTH on Lupus Anticoagulant. *J. T. H.* 2013;110(1):46–52. doi:10.1160/TH12-11-0850.
 20. Moore GW. Recent Guidelines and Recommendations for Laboratory Detection of Lupus Anticoagulants. *Semin. Thromb. Hemost.* 2014;40(2):163–171. doi:10.1055/s-0033-1364185.
 21. Laffan MA, Lester W, O'Donnell JS Will A, Tait RC, Goodeve A, Millar CM, Keeling DM. The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology. *Br. J. Haematol.* 2014;167(4):453–465. doi:10.1111/bjh.13064.
 22. Roberts JC, Flood VH. Risky business: the interpretation, use, and abuse of Laboratory diagnosis of von Willebrand disease. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2015; 37(S1):11–17. doi: 10.1111/ijlh.12345.
 23. Miller CH, Rice AS, Boylan B, Shapiro AD, Lentz SR, Wicklund BM, Kelly FM, Soucie JM; Hemophilia Inhibitor Research Study Investigators. Comparison of clot-based, chromogenic and fluorescence assays for measurement of factor VIII inhibitors in the US Hemophilia Inhibitor Research Study. *J. T. H.* 2013;11(7):1300–1309. doi: 10.1111/jth.12259.

(received 05.07.2016, published online 29.09.2016)

(одержано 05.07.2016, опубліковано 29.09.2016)

