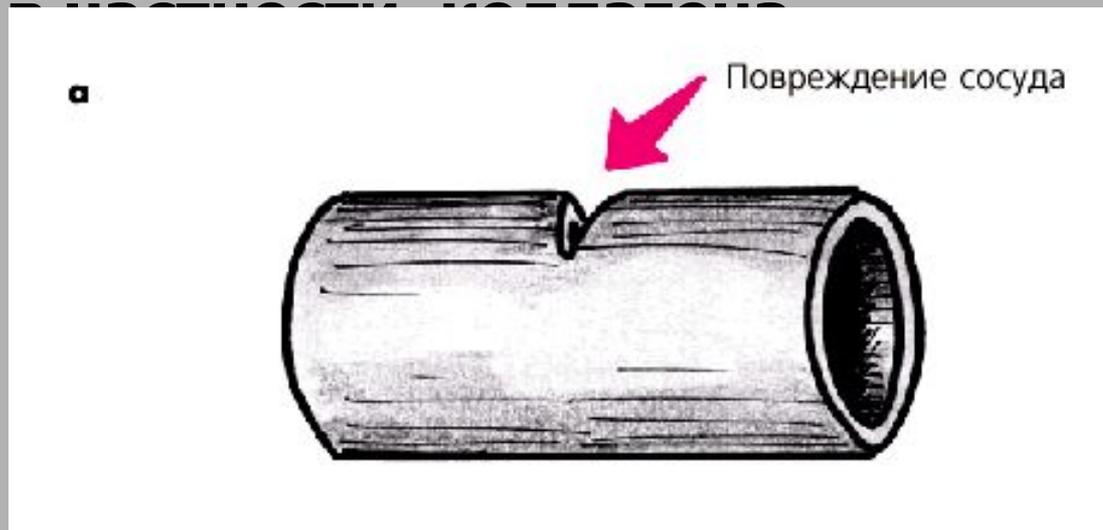


# Взаимодействие тромбоцитов и сосудистой стенки.

## Методы исследования.



**У здорового человека кровотечение из мелких сосудов при их повреждении останавливается за 1–3 мин. Это происходит, главным образом, за счет адгезии и агрегации тромбоцитов и, в меньшей степени, спазма микрососудов. Пусковую роль в этом процессе играет повреждение стенок кровеносных сосудов и обнажение субэндотелиальных тканевых структур,**



— повреждение сосуда

**Адгезия (прилипание) тромбоцитов к субэндотелию поврежденных кровеносных сосудов - начальный этап сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Связана со взаимодействием трех компонентов:**

**1) специфических рецепторов мембран тромбоцитов (гликопротеина Ib, IIb, IIIa);**

**2) коллагена;**

**3) фактора Виллебранда и некоторых других белков (тромбоспондин, фибронектин). ФВ образует**

**своеобразные мостики между коллагеном**

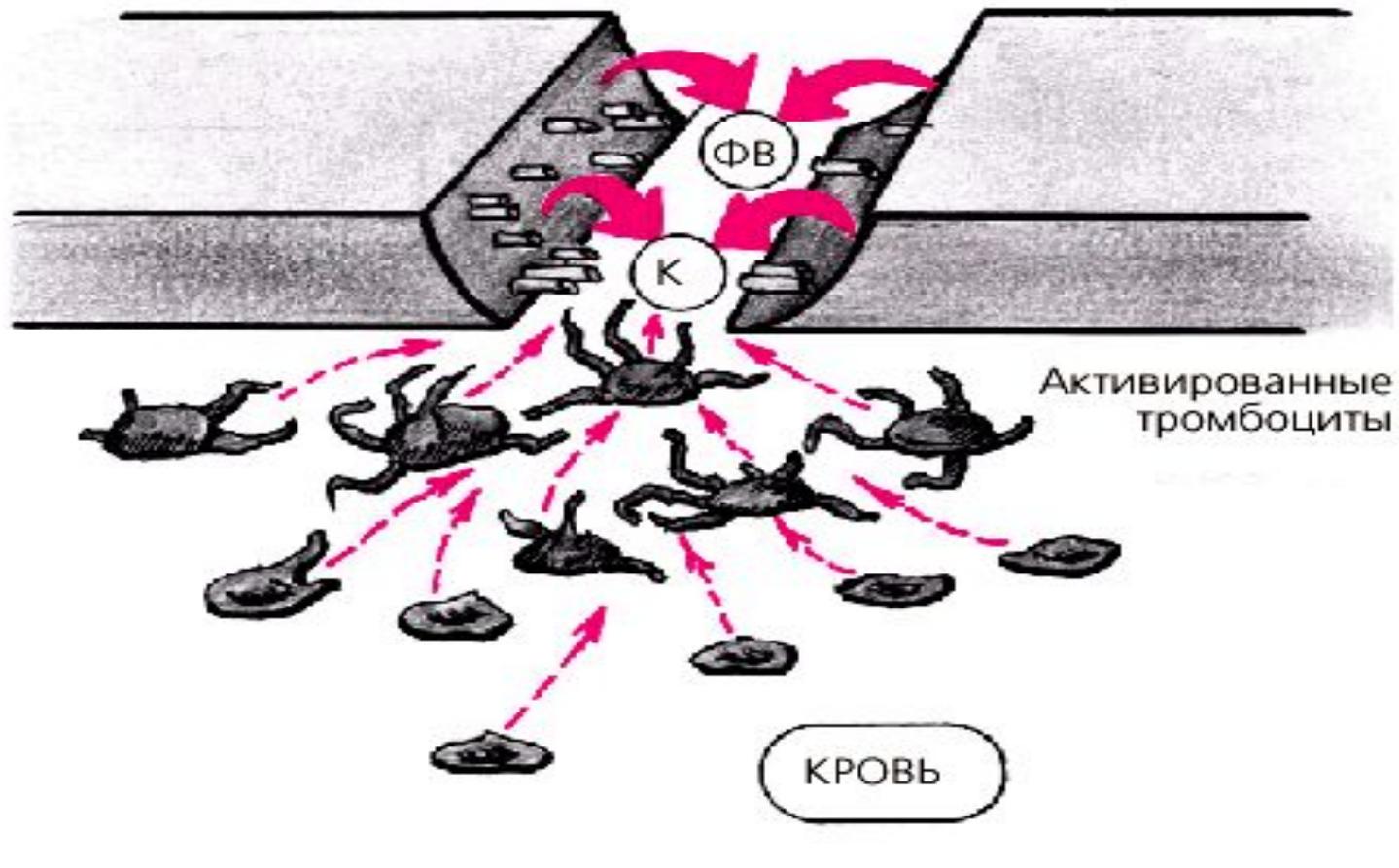
**субэндотелия сосудов и рецепторами (Ib)**

**тромбоцитов**

6

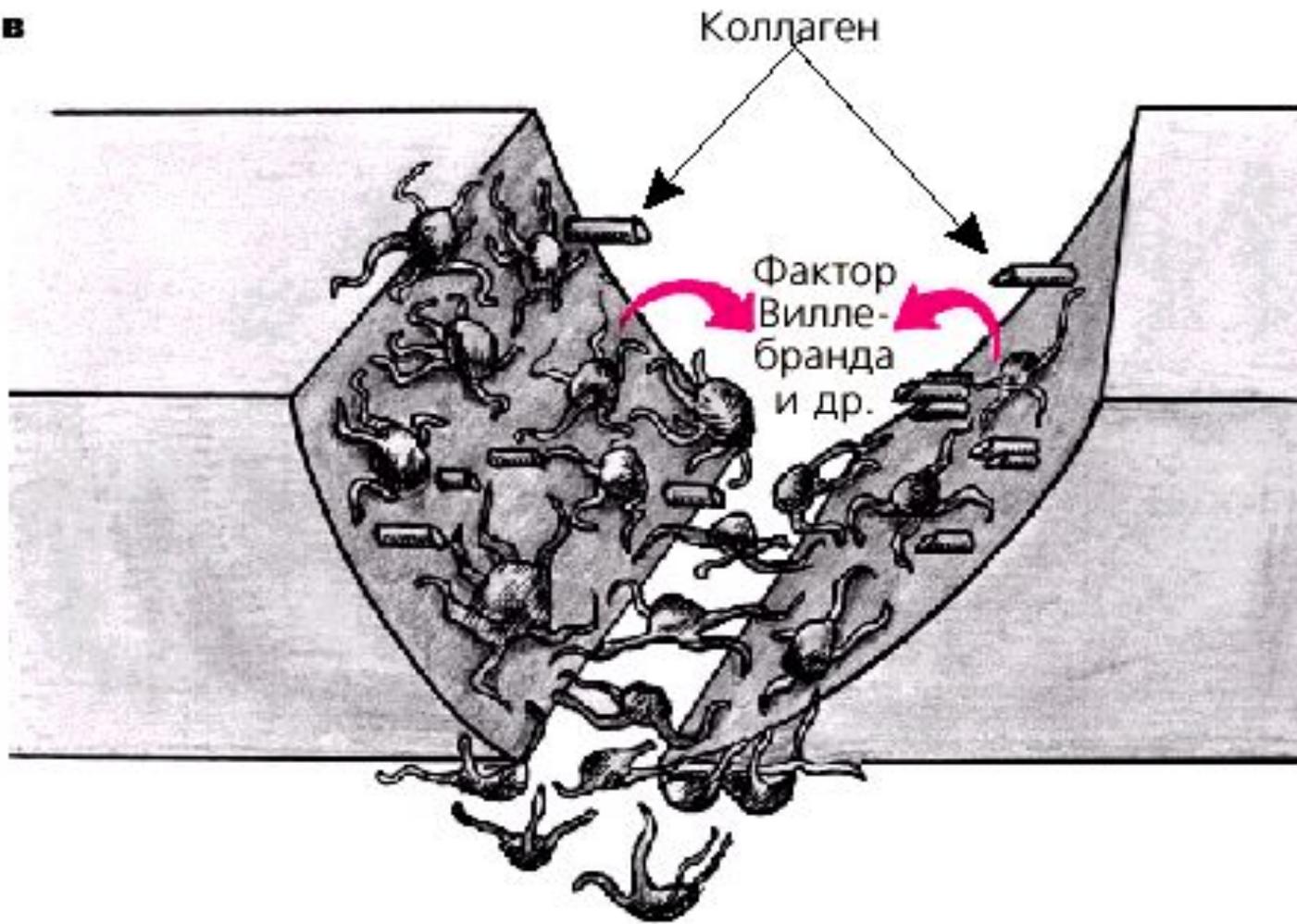
Коллаген

Стенка поврежденного сосуда



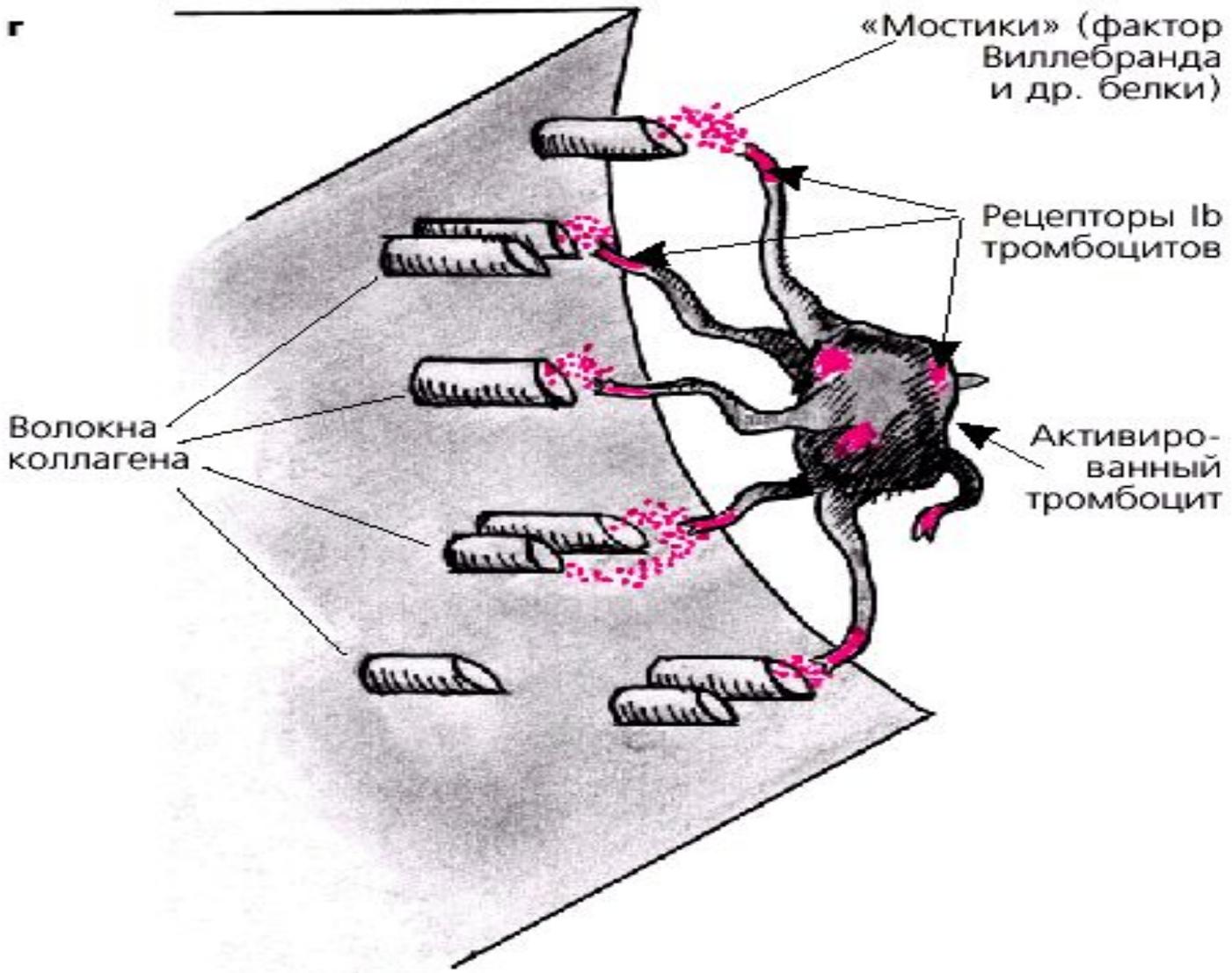
**Активация тромбоцитов под действием коллагена (К) обнажившихся субэндотелиальных тканевых структур и фактора Виллебранда (ФВ)**

**В**



**Адгезия (прилипание) тромбоцитов к субэндотелию поврежденного сосуда,**

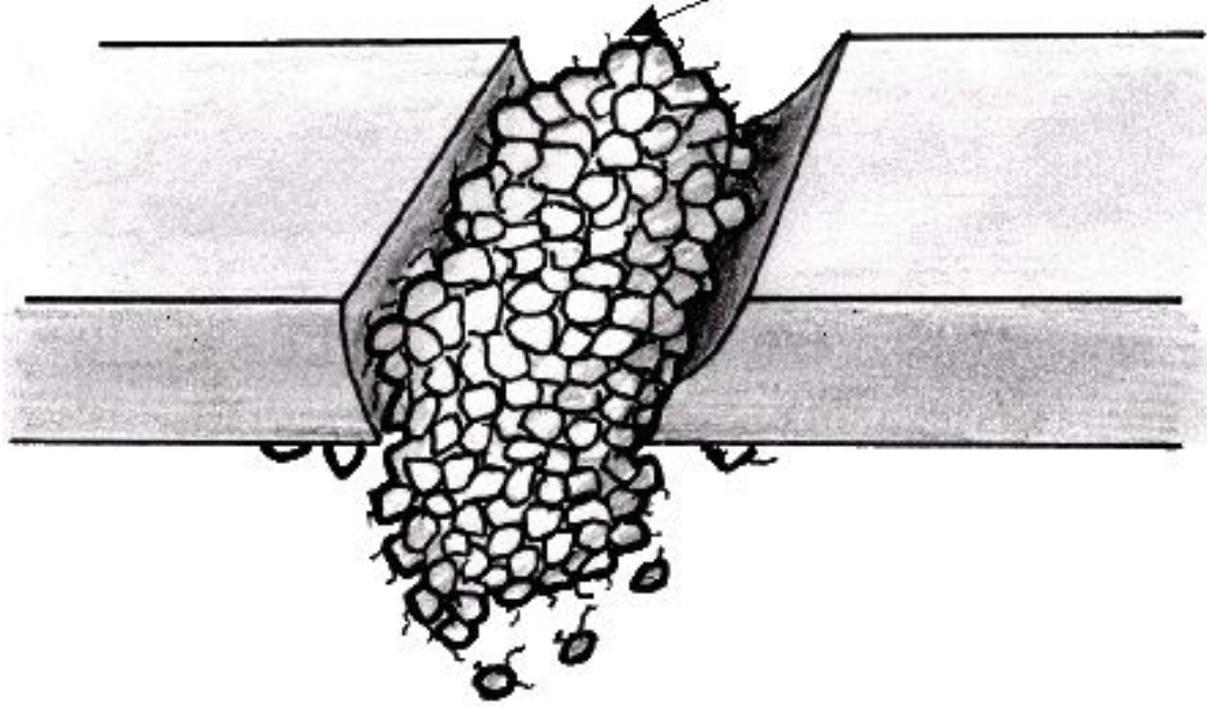
г



**Образование «мостиков» между волокнами коллагена и рецепторами Iв тромбоцитов**

д

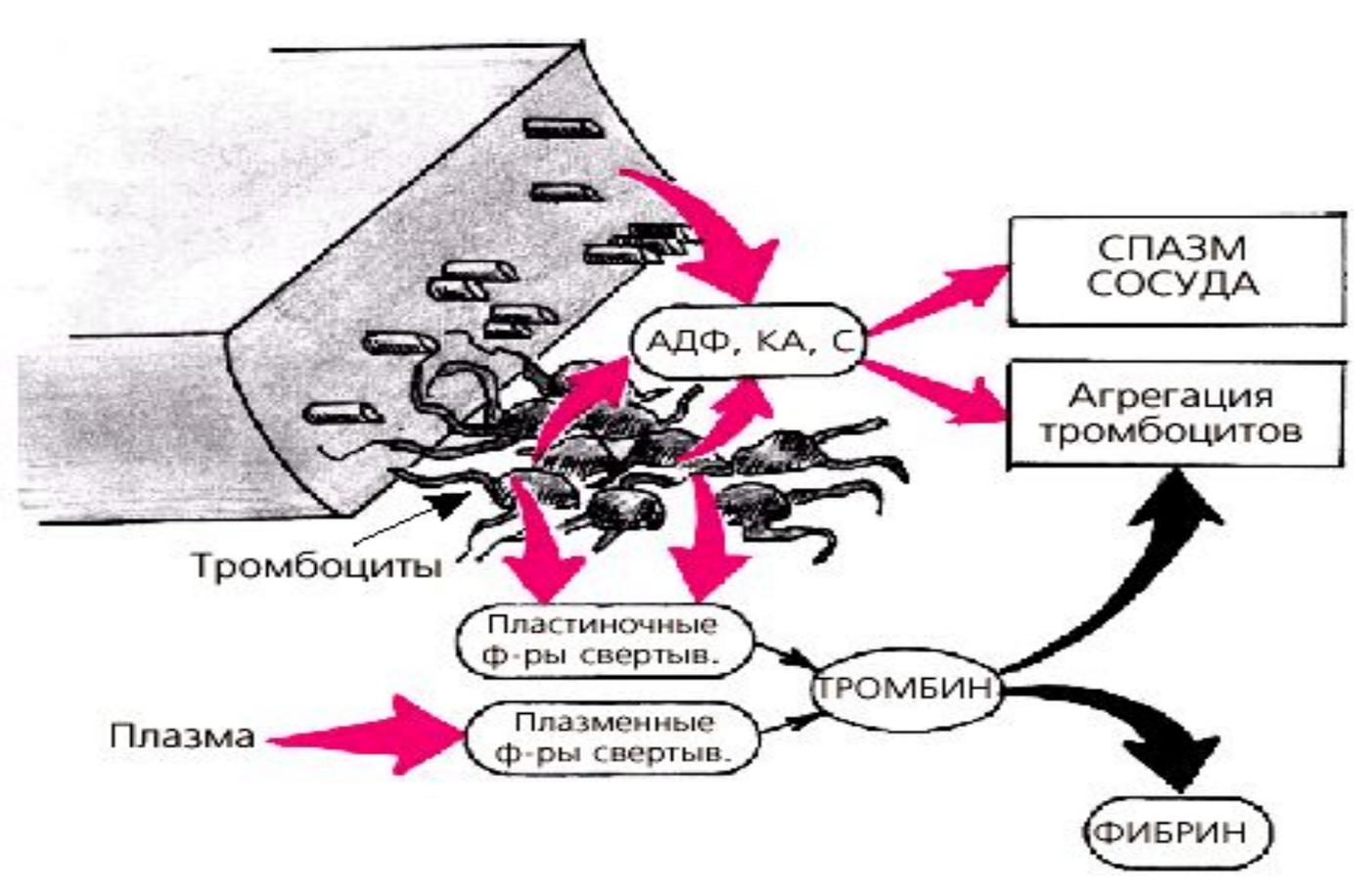
«Белый тромб»



**агрегация тромбоцитов и образование  
тромбоцитарного тромба («белого тромба»)**

Одновременно под влиянием **АДФ, катехоламинов** и **серотонина**, выделяющихся из поврежденных клеток, а также **коллагена** повышается способность тромбоцитов к **агрегации**. При этом из тромбоцитов выделяются и начинают действовать вещества, содержащиеся в электронноплотных и  $\alpha$ -гранулах тромбоцитов: большое количество **АДФ**, **серотонин, адреналин**, некоторые белки, участвующие в агрегации и свертывании крови (антигепариновый фактор тромбоцитов IV,  $\beta$ -тромбоглобулин, тромбоцитарный фактор роста и некоторые факторы свертывания, аналогичные плазменным — **фибриноген, факторы V и VIII, калликреин,  $\alpha_2$ -антиплазмин** и др.

Важную роль в формировании тромбоцитарной агрегации играют производные арахидоновой кислоты — простагландины  $\text{PGG}_2$  и  $\text{PGH}_2$  и др., из которых в тромбоцитах образуется ***тромбоксан A<sub>2</sub>, обладающий мощным агрегирующим и сосудосуживающим эффектом, а в сосудистой стенке — простациклин (PGI<sub>2</sub>), являющийся основным ингибитором агрегации.***



**Последствия реакции освобождения биологически активных веществ из поврежденной ткани и тромбоцитов.**

**АДФ — аденозиндифосфат, КА — катехоламины, С — серотонин**

## **Запомните**

**Реакция освобождения биологически активных веществ из тромбоцитов и поврежденных клеток сосудов имеет 2 важных следствия :**

**1) под влиянием АДФ, серотонина и адреналина резко усиливается процесс агрегации тромбоцитов;**

**2) под влиянием серотонина, адреналина возникает спазм поврежденного микрососуда.**

**В процессе разрушения тромбоцитов из них выделяются важные факторы свертывания:**

- 1) тромбоцитарный фактор III ;**
- 2) ФЛ (фактор 3)**
- 2) антигепариновый фактор IV;**
- 3) фактор Виллебранда;**
- 4) фактор V;**
- 5) b-тромбоглобулин;**
- 6) ростковый фактор,  $\alpha_2$  — антиплазмин, фибриноген и др**

**В результате взаимодействия плазменных и высвобождающихся пластиночных факторов и тканевого тромбопластина начинается процесс свертывания крови.**

**В зоне первичного гемостаза образуются вначале малые количества тромбина, который с одной стороны завершает процесс необратимой агрегации тромбоцитов, а с другой способствует образованию фибрина, который вплетается в тромбоцитарный сгусток и уплотняет его.**

# **Запомните**

**Наиболее важными факторами, обеспечивающими первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, являются:**

**1) число тромбоцитов в крови;**

**2) фактор Виллебранда, способствующий адгезии и агрегации тромбоцитов;**

**3) наличие в мембранах тромбоцитов специфического рецептора (гликопротеина Iв), обеспечивающего вместе с фактором Виллебранда адгезию пластинок к коллагеновым волокнам поврежденного сосуда;**

**4) наличие в мембранах активированных тромбоцитов рецепторов (гликопротеины IIв и IIIа), вступающих в специфическую реакцию с фибриногеном, тромбоспондином и другими белками, что имеет значение в формировании необратимой агрегации пластинок.**

**5) нормальный синтез в тромбоцитах из арахидоновой кислоты тромбоксана**

**A<sub>2</sub>**

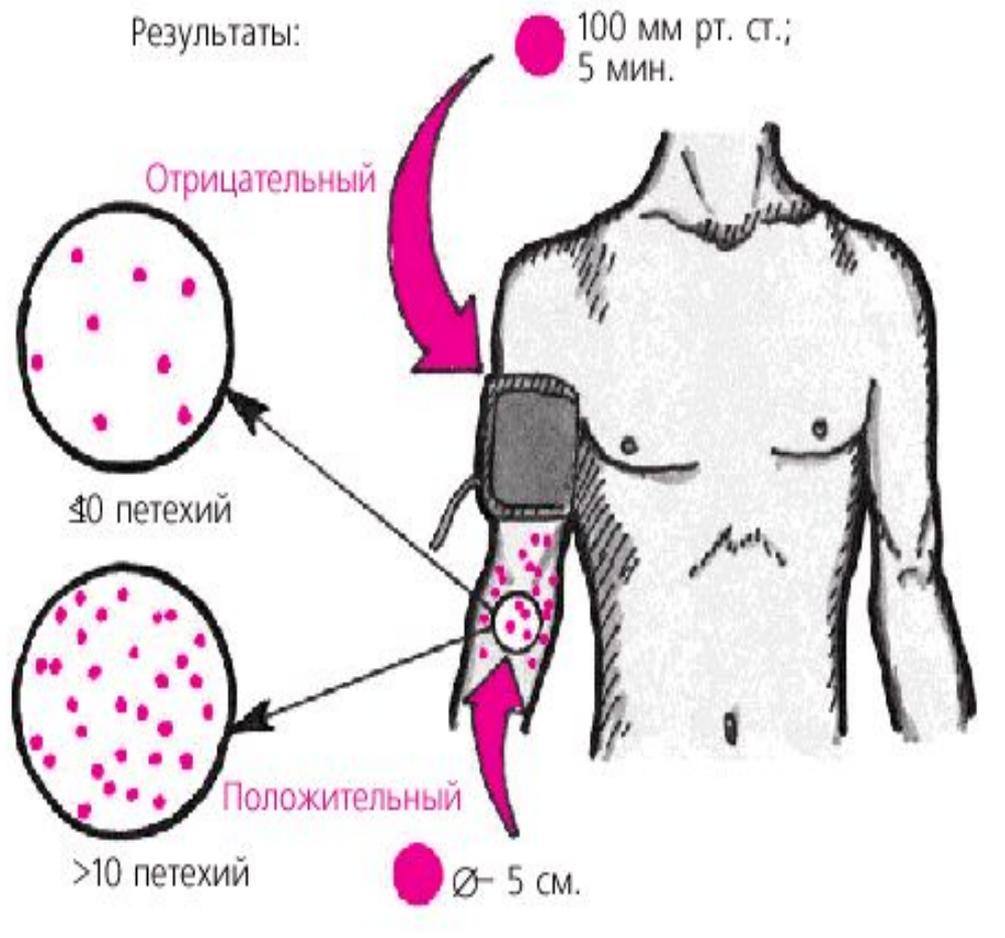
В табл. приведены наиболее распространенные заболевания и синдромы, сопровождающиеся дефицитом указанных факторов.

Факторы	Преимущественное место образования или локализация	На какие процессы влияют	Синдромы дефицита
Гликопротеин Iв	Мембрана тромбоцита (рецептор)	Адгезия	Болезнь Бернара-Сулье
Гликопротеины II в и III а	Мембрана тромбоцита (рецептор)	Необратимая агрегация (взаимодействие с фибриногеном и др. белками)	Тромбастения Гланцмана-Негели
Фактор Виллебранда в комплексе с фактором VIII	Субэндотелий поврежденных сосудов, плазма	Адгезия	Болезнь Виллебранда
Тромбоксан A <sub>2</sub>	Тромбоциты	Необратимая агрегация, спазм сосудов	Врожденные и приобретенные (симптоматические тромбоцитопатии), аспирин
Простациклин	Сосудистая стенка	Ингибитор агрегации тромбоцитов	Повышенная склонность тромбоцитов к агрегации и образованию тромбов

## ***Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза***

**Выбор методов оценки сосудисто-тромбоцитарного гемостаза зависит в первую очередь от клинической картины заболевания и склонности больного к кровотечениям или тромбозам. Существуют основные (базисные) и дополнительные тесты оценки первичного гемостаза. Ниже приведено описание наиболее распространенных *базисных* методов исследования.**

Из методов оценки резистентности (ломкости) капилляров чаще всего используется манжеточная проба Румпель-Леде-Кончаловского. Манжету для измерения АД накладывают на плечо, создавая в ней постоянное давление, равное 100 мм рт. ст. Через 5 минут оценивают результаты пробы. При отсутствии нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза ниже манжеты появляется лишь небольшое количество петехиальных (мелкоточечных) кровоизлияний (менее 10 петехий в зоне, ограниченной окружностью диаметром 5 см). При повышении проницаемости сосудов или тромбоцитопении число петехий в этой зоне превышает 10 (положительная проба).



## Проба Румпель-Леде-Кончаловского.

### Запомните

Положительная проба Румпель-Леде-Кончаловского свидетельствует о повышенной ломкости микрососудов, что может быть **также** связано с вторичным повреждением сосудистой стенки, обусловленным тромбоцитопенией, и/или тромбоцитопатией (снижением функции кровяных пластинок).

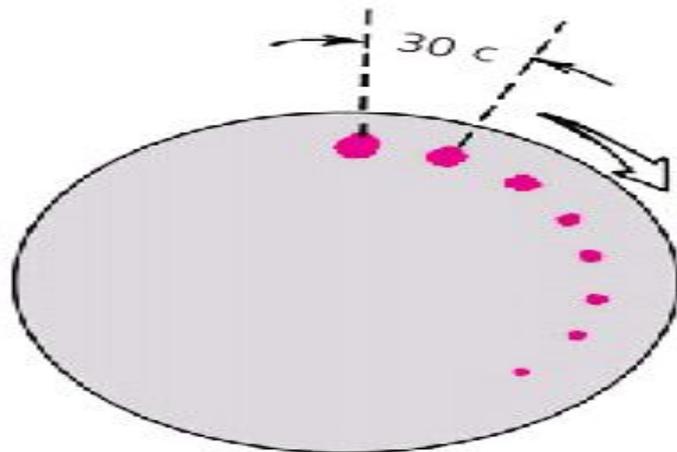
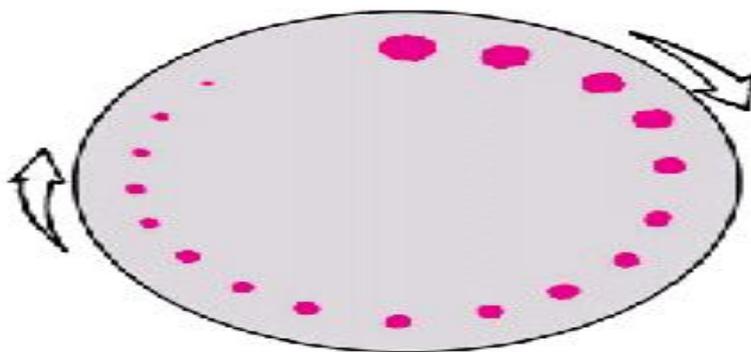
## *Время кровотечения*

*Многочисленные модификации теста основаны на точном измерении длительности кровотечения из ранки на мочке уха, мякоти ногтевой фаланги пальца руки или верхней трети ладонной поверхности предплечья.*

**Метод Дьюка.** Стерильным скарификатором или плоским ланцетом прокалывают нижний валик мочки уха (глубина прокола 3,5—4 мм) и включают секундомер.

**Предварительно мочку уха согревают между пальцами.**

**Выступающие капли крови каждые 30 с промокают фильтровальной бумагой, не прикасаясь к ранке. Как только наступит момент, когда новые капли крови не образуются, выключают секундомер и определяют общую длительность кровотечения, а также оценивают размеры капель.**

**а****б**

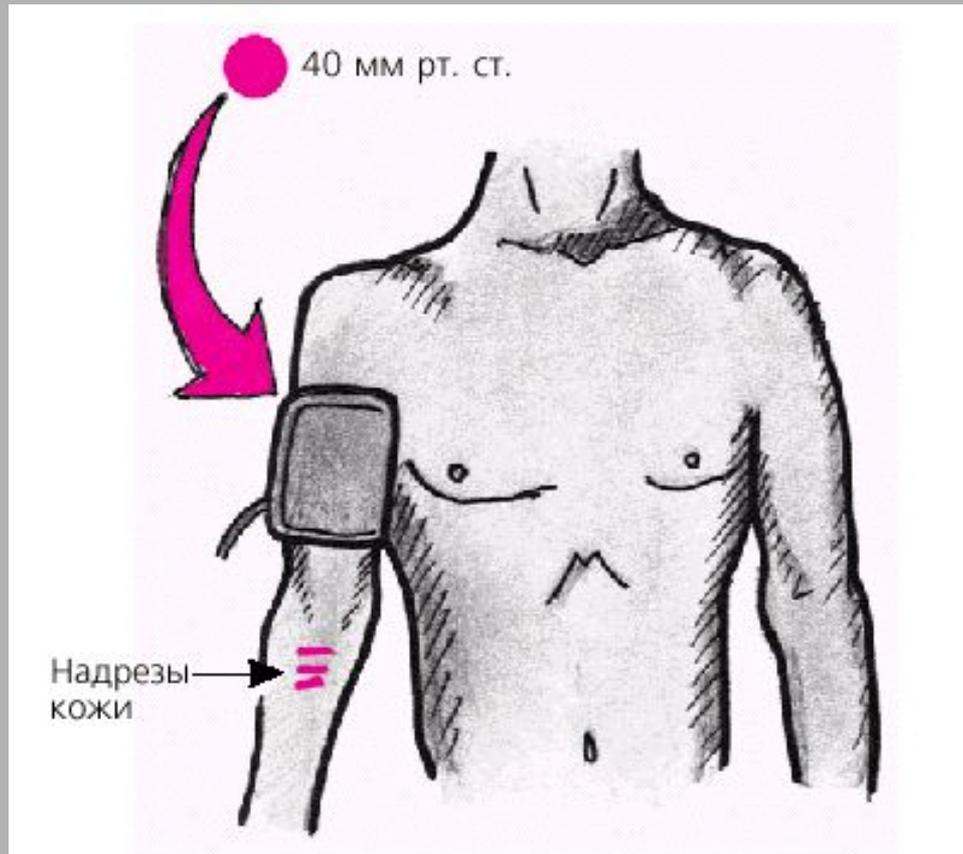
**Определение времени кровотока по Дьюку (а) у здорового человека (время кровотока 3,5 мин.) и (б) у больного с выраженной тромбоцитопенией (время кровотока 20 мин.)**

## **Запомните**

В норме время кровотечения по Дьюку не превышает 4 мин. Его увеличение наблюдается при выраженных тромбоцитопениях или/и тяжелых нарушениях их функции (тромбоцитопатиях).

Следует помнить также, что у 60% больных с этой патологией тест оказывается отрицательным, и время кровотечения нормально

**Метод Айви.** Несколько более чувствительным является тест Айви, когда оценивают время кровотечения из надрезов на коже ладонной поверхности верхней трети предплечья на фоне искусственного повышения венозного давления с помощью манжеты для определения АД, в которой поддерживают давление 40 мм рт. ст. В норме время кровотечения по Айви не превышает 8 минут.



## *Подсчет числа тромбоцитов*

Наибольшее распространение в настоящее время получили три метода подсчета тромбоцитов в крови:

- 1. Подсчет в камере Горяева;**
- 2. Подсчет в мазках крови;**
- 3. Электронно-автоматический метод**

**У здоровых людей количество тромбоцитов в крови составляет  $180-320 \times 10^9/\text{л}$ .**

**Уменьшение числа тромбоцитов ниже  $150 \times 10^9/\text{л}$  носит название тромбоцитопения.**

**Снижение количества тромбоцитов возникает в результате:**

- 1) недостаточного их образования в костном мозге;**
- 2) повышенного потребления в сосудистой системе**
- 3) повышенного разрушения.**

**Наиболее частыми причинами снижения количества тромбоцитов в крови являются:**

- 1. *Иммунные формы тромбоцитопении:***
- 2. *Тромбоцитопении, связанные с угнетением пролиферации клеток в костном мозге* (апластическая анемия, токсические, инфекционно-токсические поражения костного мозга).**
- 3. *Тромбоцитопении, обусловленные замещением костного мозга опухолевидными клетками***

**4. Тромбоцитопении, обусловленные *повышенным потреблением тромбоцитов*** (например, при тромбозах и синдроме ДВС).

**5. Тромбоцитопении при *дефиците витамина  $B_{12}$  и фолиевой кислоты***, ведущие к нарушению деления всех клеток костного мозга в связи с повреждением механизма образования **ДНК**

**6. Тромбоцитопении, обусловленные *механической травмой* кровяных пластинок** (например, при спленомегалии).

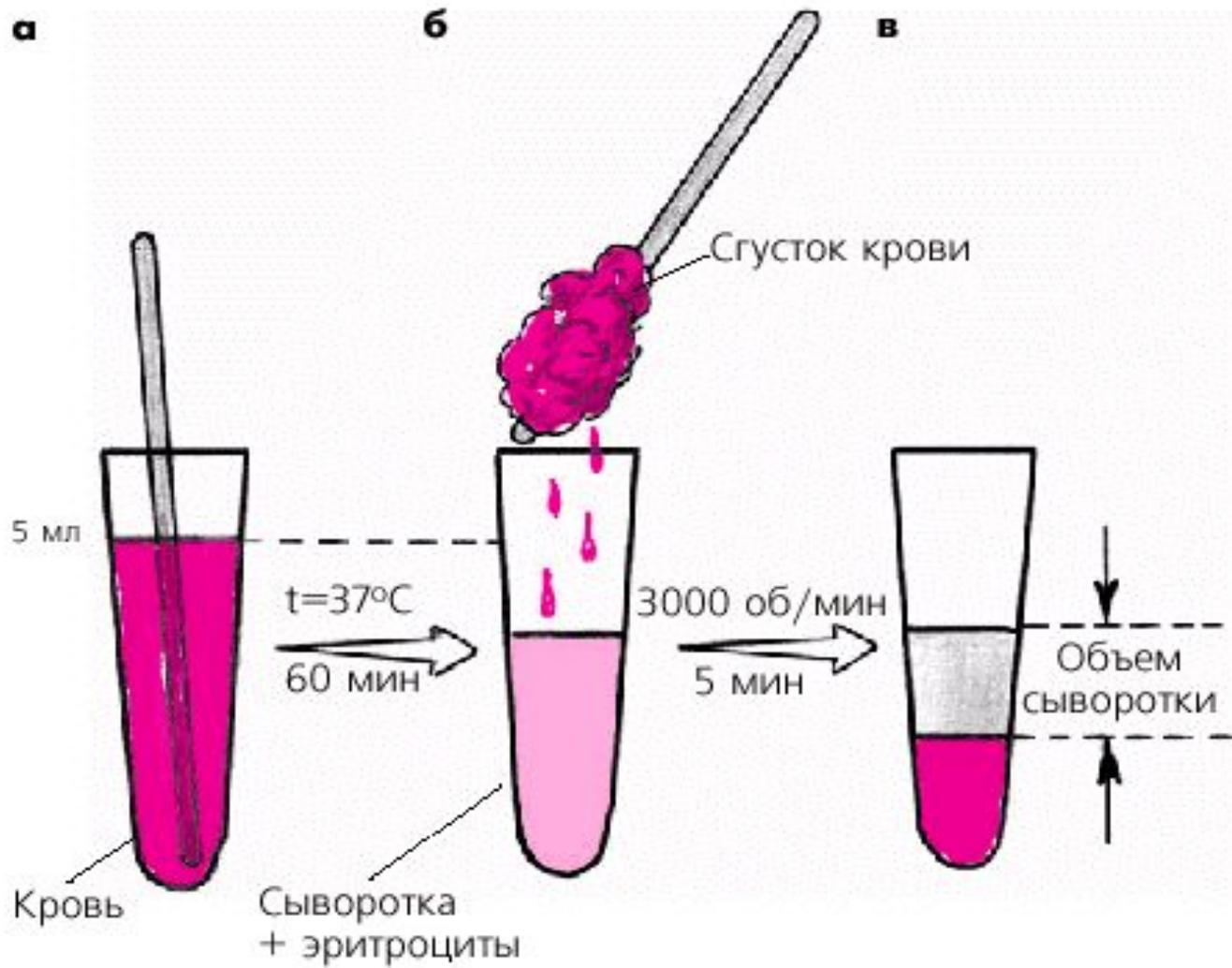
Увеличение количества тромбоцитов в крови (**тромбоцитоз**) непостоянно наблюдается при:

- 1) миелопролиферативных заболеваниях (эритремия, хронический миелолейкоз, остеомиелофиброз и др.);
- 2) злокачественных новообразованиях различной локализации;
- 3) после спленэктомии.

## *Ретракция сгустка крови*

*В клинической практике чаще используют непрямые методы оценки ретракции сгустка. Один из них заключается в определении объема сыворотки, выделяемой при ретракции сгустка крови, по отношению к объему плазмы исследуемой крови*

В градуированную центрифужную пробирку набирают 5 мл крови, опускают в нее деревянную палочку и помещают пробирку в водяную баню. В исследуемой крови определяют показатель гематокрита. Через 1 ч после свертывания крови сгусток, прикрепившийся к палочке, удаляют, дав жидкой части стечь обратно в пробирку. Далее измеряют объем жидкости, оставшейся в пробирке, центрифугируют ее при 3000 об/мин в течение 5 минут и измеряют объем осевших эритроцитов. Искомый объем сыворотки определяют по разнице между объемом оставшейся в пробирке жидкости и объемом эритроцитов



Ретракцию сгустка рассчитывают по формуле:

Ретракция сгустка =  $OC/OP$ ;

где  $OC$  — объем сыворотки после ретракции сгустка;

$OP$  — объем плазмы перед началом исследования.

Объем плазмы можно определить следующим образом:

$OP = OK \times (100 - Ht) / 100$

где  $OK$  — объем исследуемой крови;

$Ht$  — гематокрит.

## **Запомните**

**В норме ретракция сгустка составляет 40—95%.**

**Ее уменьшение наблюдается при выраженных тромбоцитопениях и тромбастении Гланцмана.**

## *Определение ретенции (адгезивности) тромбоцитов*

*Среди многочисленных методов определения адгезивности тромбоцитов наибольшее распространение получил метод определения ретенции на стеклянных шариках. Метод основан на подсчете числа тромбоцитов в венозной крови до и после ее пропускания с определенной скоростью через стандартную колонку со стеклянными шариками.*

*Для исследования берут свежевзятую цитратную кровь.*

*В полиэтиленовый или силиконированный стеклянный шприц набирают 2 мл крови, присоединяют к нему полихлорвиниловую трубку (колонку) со стеклянными шариками диаметром 0,2–0,4 мм и устанавливают шприц в инфузионный насос, позволяющий опорожнять шприц со скоростью 2 мл в минуту. Количество тромбоцитов определяют дважды: до и после пропускания крови через колонку со стеклянными шариками.*

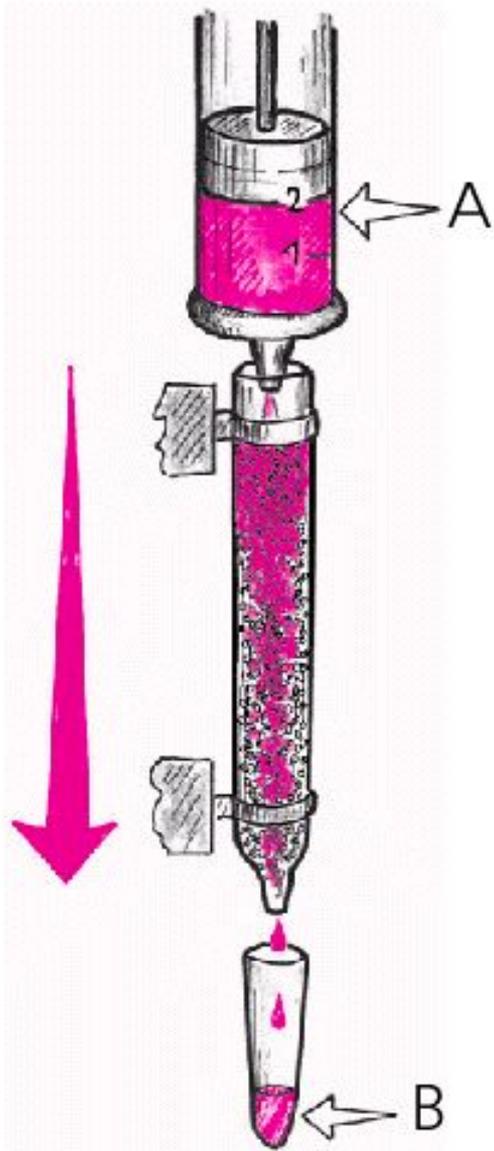


Схема определения ретенции (адгезивности) тромбоцитов

Индекс ретенции (адгезивности) тромбоцитов рассчитывают по следующей формуле:

$$IP = (A-B/A) \times 100(\%),$$

где IP — индекс ретенции (адгезивности);

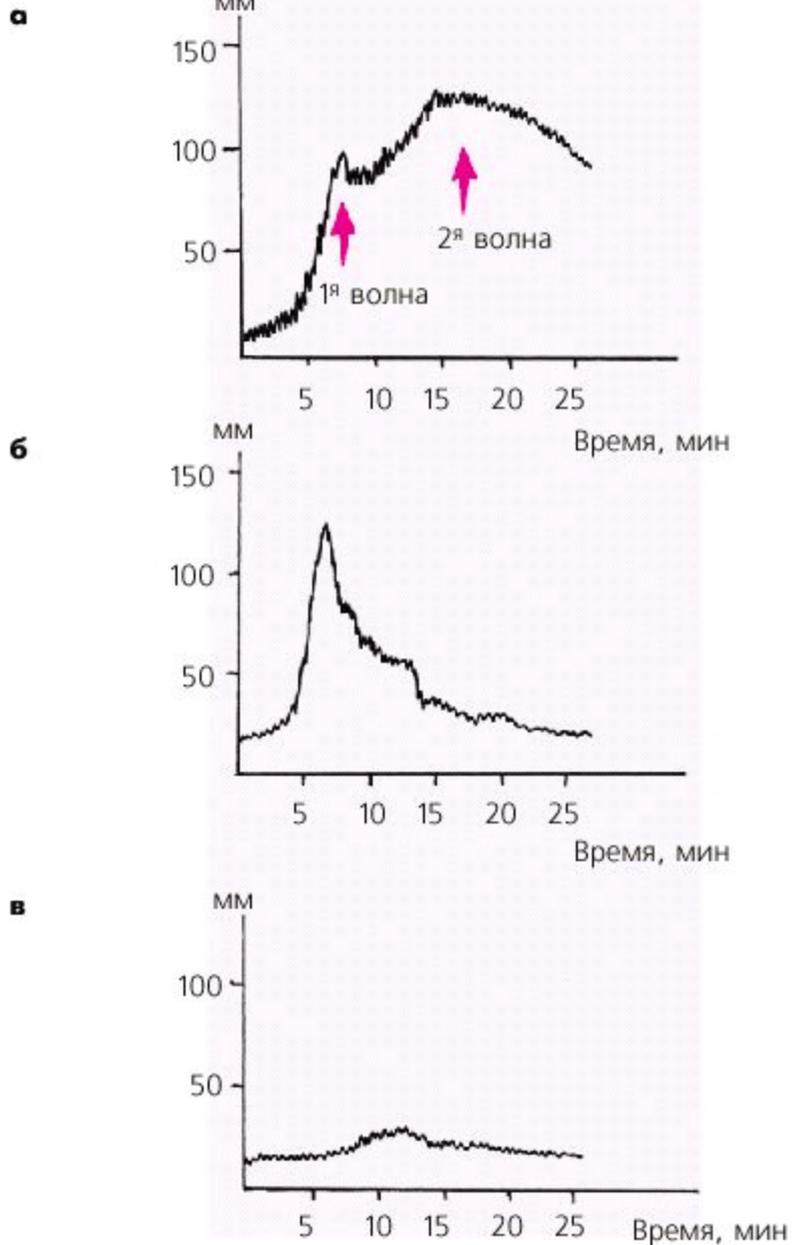
A — количество тромбоцитов в крови до пропускания;

B — количество тромбоцитов в крови после пропускания через колонку.

**У здоровых людей индекс ретенции составляет 20–55%. Уменьшение этого показателя свидетельствует о нарушении адгезии тромбоцитов и встречается при многих врожденных тромбоцитопатиях (тромбастения Гланцмана, болезнь Бернара-Сулье, болезнь Виллебранда и др.).**

## *Исследование агрегации тромбоцитов*

Наиболее полная оценка агрегационной способности тромбоцитов осуществляется при *количественной фотометрической или спектрофотометрической регистрации* процесса агрегации с помощью агрегографов различной конструкции. Методы заключаются в графической регистрации изменения оптической плотности тромбоцитарной плазмы при перемешивании ее со стимуляторами агрегации. Образование тромбоцитарных агрегатов ведет к увеличению светопропускающей способности тромбоцитарной плазмы



Полученные агрегатограммы анализируют по нескольким количественным параметрам: времени начала агрегации после добавления соответствующего стимулятора, амплитуде агрегатограммы на 2-й и 6-й минутах, общей площади агрегатограммы и др. В зависимости от используемого стимулятора и его дозы агрегатограмма может иметь различную форму. При использовании в качестве стимуляторов агрегации тромбоцитов коллагена, тромбина, ристомидина регистрируют одну большую волну агрегации, а при добавлении к тромбоцитарной плазме малых доз АДФ — двухволновую агрегатограмму

На агрегатограммах, полученных при использовании в качестве стимулятора малых доз АДФ, первая волна регистрируемой кривой отражает начальную агрегацию тромбоцитов, обусловленную введением извне стимулятора этого процесса. Вторая волна связана с реакцией высвобождения из тромбоцитов собственных биологически активных веществ (адреналина, АДФ, тромбоксана  $A_2$  и др.), которые усиливают начавшуюся агрегацию кровяных пластинок.

## **Запомните**

**Отсутствие на агрегатограммах, полученных при использовании в качестве стимулятора малых доз АДФ, второй волны агрегации свидетельствует об уменьшении в тромбоцитах гранул, содержащих биологически активные вещества (недостаточность пула хранения), или о нарушении реакции высвобождения этих веществ из тромбоцитов.**

В табл. представлены примеры нарушения функций тромбоцитов при наиболее частых формах врожденных и приобретенных тромбоцитопатий и тромбоцитопений.

Болезни и синдромы	Число тромбоцитов	Адгезия тромбоцитов	Ретракция сгустка	Агрегация тромбоцитов				
				АДФ		Коллаген	Бычий фибриноген	Ристомин
				1-я волна	2-я волна			
Идиопатические аутоиммунные тромбоцитопении	↓	Норма или ↓	↓	Норма или ↓	Норма или ↓	Норма или ↓	Норма	Норма
Тромбастения Гланцмана	Норма	↓	↓	↓	↓	↓	Норма	Норма
Болезни с нарушением реакции высвобождения (наследственные)	Норма	↓	Норма	Норма	↓	↓	Норма	Норма
Болезнь (синдром) Виллебранда	Норма	↓	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	↓
Болезнь Бернара-Сулье	Норма или ↓	↓	Норма	Норма или ↓	Норма или ↓	Норма	↓	↓

## **Запомните**

**Свойствами нарушать реакцию высвобождения, адгезию и агрегацию тромбоцитов в большей или меньшей степени обладают ацетилсалициловая кислота, индометацин, бутадион, ибупрофен, имидазол, дипиридамол (курантил), реополиглюкин, папаверин, эуфиллин, изоптин (верапамил), коринфар, аминазин, амитриптилин, карбенициллин, большие дозы пенициллина и др. Наиболее существенными и постоянными отличиями тромбоцитопатий с нарушениями реакции высвобождения является отсутствие второй волны на агрегатограммах .**

Тромбоциты



Сходными свойствами обладает еще одна группа тромбоцитопатий — так называемые **болезни недостаточного пула накопления или хранения**. В эту группу входят наследственные тромбоцитопатии, для которых характерна неспособность накапливать и, соответственно, выделять необходимые для агрегации биологически активные вещества (АДФ, серотонин, адреналин и др.). При электронной микроскопии в этих случаях выявляется уменьшение и даже полное отсутствие в цитоплазме тромбоцитов тех или иных гранул, содержащих эти вещества (*"болезни отсутствия гранул"*). Таким образом, при этом виде тромбоцитопатий нарушается реакция высвобождения. Поэтому основные показатели тромбоцитарного гемостаза неотличимы от таковых, свойственных группе тромбоцитопатий с первичным нарушением реакции высвобождения. Отличия выявляются только при электронной микроскопии: при болезнях нарушенного накопления в тромбоцитах резко уменьшено содержание гранул высокой плотности, тогда как при других тромбоцитопатиях этого нет

## ***Принципы диагностики нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза***

***Во многих клинических случаях диагностика конкретной причины кровоточивости, обусловленной дефектом сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, достаточно сложна и в ряде случаев требует использования в диагностике сложных лабораторных методов исследования функции и микроструктур тромбоцитов, не нашедших пока широкого клинического применения. Тем не менее при проведении диагностического поиска следует учитывать несколько важных принципов***

**1. Обследование больных с повышенной кровоточивостью следует начинать с определения наиболее простых показателей: количества тромбоцитов в крови, их размеров, длительности кровотечения.**

**2. Если выявляется *тромбоцитопения*, первый этап дифференциальной диагностики должен быть направлен на исключение у больного аплазии кроветворения, гемобластозов,  $B_{12}$ -дефицитной анемии, болезни Маркиафавы-Микели, метастазов рака в костный мозг, а также ДВС-синдрома. С этой целью проводятся такие исследования как стерильная пункция, трепанобиопсия, гастродуоденоскопия, рентгенологическое исследование легких, УЗИ-исследование и др**

**3. Если названная патология отсутствует, необходимо последовательно исключить возможность гетероиммунной формы заболевания (реакция на лекарственные препараты или на острую вирусную инфекцию) и *симптоматических аутоиммунных форм* заболевания, развившихся на фоне другого основного патологического процесса: системной красной волчанки, ревматоидного артрита, хронического лимфолейкоза, хронического активного гепатита, цирроза печени и др.**

**4. Если результаты этого диагностического поиска оказались отрицательными, следует думать о возможной *аутоиммунной идиопатической тромбоцитопенической пурпуре*. В этих случаях диагноз подтверждается**

**а) отсутствием признаков болезни в раннем детстве у пациента и у кровных родственников;**

**б) хорошим эффектом кортикостероидной терапии;**

**в) другими более сложными методами исследования функции тромбоцитов, например методом Диксона, в основе которого лежит количественное определение антител на поверхности тромбоцитов**

**5. Если при подсчете тромбоцитов в крови их число оказалось нормальным, то с определенной долей вероятности следует проводить диагностический поиск заболеваний, в основе которых лежит нарушение функций тромбоцитов — *тромбоцитопатий*. С этой целью необходимо определить способность кровяных пластинок к адгезии и агрегации с различными стимуляторами (**АДФ**, адреналин, коллаген, бычий фибриноген и ристомицин).**

**6. Наконец, при обнаружении признаков нарушенного высвобождения целесообразно прибегнуть к более сложным методам исследования, включая электронную микроскопию.**