

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская
академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра биологической химии

**СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА. КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ.
Учебно-методические рекомендации**

Владикавказ 2022 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	
МЕХАНИЗМ ГЕМОСТАЗА. СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ	4
Первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз	4
Плазменный (коагуляционный) гемостаз	8
Коагуляционное звено гемостаза	9
Ингибиторы ферментов системы гемостаза (антикоагулянты)	14
Система фибринолиза	15
Лизис фибринового сгустка	6
Особенности гемостаза женщин при менструации и беременности	17
ПАТОЛОГИЯ ГЕМОСТАЗА	18
Гипокоагуляция. Геморрагические заболевания	19
Патология тромбоцитарного звена	19
Геморрагические коагулопатии	20
Гиперкоагуляция	23
Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром)	27
Основные лекарственные препараты для лечения нарушений гемостаза	31
Принципы лечения кровоточивости	31
Медикаментозное лечение гиперкоагуляции	31
Ингибиторы функции тромбоцитов (антиагреганты)	31
Антикоагулянты прямого действия	32

Антикоагулянты непрямого действия (антагонисты витамина К)

34

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

36

Основные понятия 36

Основные этапы исследования гемостаза

37

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОСТАЗА

43

Методы оценки общей коагуляции

43

Оценка сосудисто-тромбоцитарного звена 45

Оценка функционального состояния тромбоцитов 47

Тесты скрининговой коагулограммы 48

Протромбиновое время (ПВ). 48

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)

51

Тромбиновое время

53

Фибриноген 54

Дополнительные тесты 55

Оценка системы фибринолиза. Фибринолитическая активность 55

Оценка антикоагуляционного звена гемостаза

56

Антитромбин

56

Система протеина С

57

Оценка уровня тромбинемии 59

Доступные методы определения составляющих ПДФ

60

Выявление эффектов волчаночного антикоагулянта (ВА)	61
Основные скриниговые тесты	62
Лабораторная диагностика и мониторинг ДВС-синдрома	64
Суммарный средний индекс тромбогенности (ССИТ)	
65	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	67
Библиография	68

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

МЕХАНИЗМ ГЕМОСТАЗА.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

Свертывающая система крови (гемостаз) является одной из самых сложных систем в организме. Это биологическая система, основной функцией которой является поддержание равновесия между антагонистически действующими механизмами, обеспечивающими сохранение жидкого состояния крови, предотвращение кровопотери путем поддержания целостности сосудистой стенки и образования тромбов в местах повреждения сосуда, растворение тромба и восстановление кровотока, обеспечение первичного заживления раны. Взаимодействие различных звеньев позволяет системе гемостаза удерживаться в пределах физиологических колебаний между гипокоагуляцией (снижением свертываемости крови) и гиперкоагуляцией (повышением свертываемости).

К структурным группам системы гемостаза относятся:

- интима кровеносных сосудов,
- клетки крови (тромбоциты, эритроциты, лейкоциты, макрофаги),
- плазменные ферментные системы крови.

В условиях жизни организма (*in vivo*) гемостаз является единой системой, все звенья которой тесно взаимосвязаны. Для удобства изучения система гемостаза условно разделена на две части: первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и вторичный плазменно-ферментный коагуляционный гемостаз, состоящий из коагуляционного и фибринолитического звеньев.

В полисистему гемостаза также включены калликреин–кининовая система и система комплемента и иммунитета.

Процессы свертывания крови и фибринолиза в организме человека идут постоянно от рождения до смерти. Причиной может быть повреждение эндотелия, гибель клеток, выброс адреналина и др. Однако эти процессы имеют локальный характер. Генерализации процесса свертывания препятствует тесное взаимодействие звеньев гемостаза. Срыв механизмов адаптации приводит к генерализации процесса, который выражается развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС).

Для остановки возникшего кровотечения необходима концентрация факторов свертывания крови в месте повреждения. Местом накопления факторов служат коллаген, тканевой фактор и фосфолипиды мембран тромбоцитов и некоторых других клеток.

Первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.

Задачей первичного гемостаза является начальная остановка кровотечения путем образования тромбоцитарной пробки в месте повреждения сосуда. В первичном гемостазе участвуют эндотелиальные клетки кровеносных сосудов, субэндотелий, мышечные волокна сосудов и тромбоциты (табл. 1).

Эндотелиальные клетки содержат в своем составе как ингибиторы (антикоагулянты), так и активаторы (прокоагулянты) гемостаза. Здоровая эндотелиальная клетка выделяет в просвет сосуда вещества, обладающие антикоагулянтной активностью. К таким веществам относятся антиагреганты и вазодилататоры: гепарансульфат, оксид азота NO, простаглицлин и другие соединения. Все активные вещества сосредоточены в пределах гликокаликса эндотелиальной клетки. Гликокаликс – это молекулярный слой с наружной стороны эндотелиальной клетки, который состоит из гликопротеидов, протеогликанов, гликолипидов. В нем проходят пристеночные метаболические процессы. Сиаловые кислоты гликокаликса формируют на поверхности клетки отрицательный заряд, что препятствует адгезии (прилипанию) к эндотелию отрицательно заряженных клеток крови, включая тромбоциты.

При повреждении клеток эндотелия в просвет сосуда поступают прокоагулянты, в частности, фактор Виллебранда, тканевой фактор, ингибитор фибринолиза PAI-1 и оголяется слой субэндотелия.

Субэндотелий сосудистой стенки образован полимерными белками: коллагеном, эластаном и др. Коллаген образует эластичную стенку сосуда и является субстратом для адгезии тромбоцитов. Он обладает выраженным тромбогенным эффектом. Клетки субэндотелия (макрофаги, фибробласты, лейкоциты) содержат на своей поверхности тканевой фактор (ранее – тканевой тромбопластин), который активирует плазменное звено гемостаза.

Таблица 1.

Элементы и функции компонентов первичного гемостаза

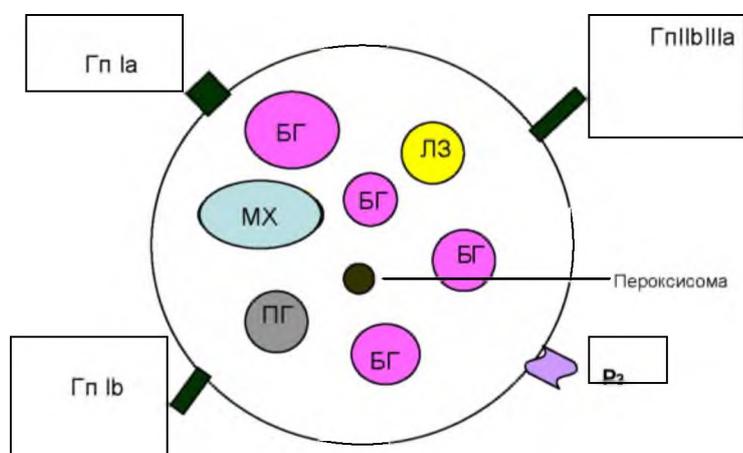
Элементы	Функция
----------	---------

Эндотелий	Обеспечение тромборезистентности. Препятствие выходу клеток крови и контактной активации тромбоцитарного и плазменного гемостаза. Повреждение – выделение факторов активации всех звеньев гемостаза.
Субэндотелий	Активация свертывания. Выделение тканевого фактора, стимуляторов тромбоцитов, активация коллагеном тромбоцитов и факторов свертывания, в том числе фактора Виллебранда.
Гладкие мышцы	Обеспечение сосудистого тонуса. Остановка кровотечения сокращением и перекрытием просвета сосуда.
Тромбоциты	Образование первичного тромба. Секреция вазоактивных веществ, адгезия и агрегация тромбоцитов, выделение тромбоцитарных факторов свертывания

Тромбоциты (кровяные пластинки) – мелкие безъядерные клетки диаметром 2-4 мкм. Образуются в костном мозге из мегакариоцитов и утилизируются в селезенке. Жизненный цикл тромбоцитов составляет 9-10 дней. Тромбоцитарный пул включает зрелые пластинки диаметром 2-3 мкм (80-95%), молодые формы - макротромбоциты (1-10%) и заканчивающие свой срок жизни микротромбоциты (3-15%). Примерно 2/3 тромбоцитов циркулирует в плазме крови, а 1/3 находится в селезенке. Мембрана тромбоцитов имеет сложное строение и состоит из наружного и внутреннего слоев, которые отличаются по составу фосфолипидов. Микротрубочки вместе с фибриллярными белками образуют цитоскелет тромбоцитов. В цитоплазме тромбоцитов имеются субклеточные структуры и гранулы, в которых накапливаются различные вещества, так называемые пулы хранения. На поверхности тромбоцитов находятся рецепторы, необходимые для активного взаимодействия с другими клетками, плазменными белками и небелковыми веществами (рис.1).

Так, рецептор мембраны тромбоцитов гликопротеин Ia (Гп Ia) чувствителен к коллагену, гликопротеин IIbIIIa (Гп IIbIIIa) - основной рецептор агрегации тромбоцитов, гликопротеин Ib (Гп Ib) участвует в опосредованной фактором Виллебранда адгезии тромбоцитов к субэндотелию и активации тромбоцитов. Внешними стимуляторами фактора Виллебранда являются антибиотик ристомицин (ристоцетин) и белок змеиного яда ботоцетин. Врожденная или приобретенная недостаточность рецепторов тромбоцитов приводит к нарушению их функции (тромбоцитопатии) и проявляется в виде геморрагического синдрома.

Рис.1. Строение и рецепторы тромбоцитов



МХ – митохондрия, ЛЗ – лизосома, ПГ – плотные гранулы, БГ – белковые гранулы, гликопротеин (Гп) Ia – рецептор тромбоцитов к коллагену, Гп Ib - рецептор тромбоцитов к фактору Виллебранда и ристоцетину, ГпIIb IIIa – рецептор тромбоцитов к фибриногену и АДФ, P₂ – фосфолипидный фактор тромбоцитов.

Тромбоциты содержат ряд специфичных тромбоцитарных факторов. Факторы тромбоцитов обозначаются буквой P (от platelet – тромбоцит). Одним из них является 3 фактор тромбоцитов (аббревиатура P₃, PF₃). Он представлен кислыми фосфолипидами мембраны тромбоцитов: фосфатидилсерином (ФС), фосфатидилэтаноламином (ФЭ) и фосфатидилинозитолом (ФИ). При активации тромбоцитов их внутренняя мембрана выворачивается и количество фосфолипидов на наружной мембране тромбоцита увеличивается. Фосфолипиды образуют поверхность, необходимую для фиксации, активации и взаимодействия плазменных белков гемостаза.

В цитоплазме тромбоцитов содержатся митохондрии (МХ), обеспечивающие клетку энергией, пероксисомы, содержащие каталазу, лизосомы с набором кислых гидролаз, плотные гранулы и белковые гранулы. Цитоплазма тромбоцитов также содержит XIII (фибринстабилизирующий) фактор свертывания плазмы и гликоген.

В плотных гранулах концентрируются вещества небелковой природы: АДФ, АДФ, Ca⁺⁺, серотонин, адреналин, гистамин и др. Попадая в кровоток, они вызывают сосудистую реакцию и агрегацию тромбоцитов.

В белковых гранулах хранится до 30 различных белков, большая часть которых была синтезирована в мегакариоцитах. В гранулах хранятся такие белки,

как фактор Виллебранда, фибриноген, фактор V, протеин S, высокомолекулярный кининоген (ВМК), 4-ый фактор тромбоцитов P4 и другие. При стандартной окраске мазка периферической крови белковые гранулы приобретают сиреневатый оттенок, благодаря которому тромбоциты легко идентифицируются.

Основные функции тромбоцитов:

1. Формирование первичной тромбоцитарной пробки путем адгезии и агрегации тромбоцитов.
2. Участие в плазменном гемостазе:
 - выделение фосфолипидного фактора P3 как матрицы для концентрации плазменных факторов,
 - выброс прокоагулянтов из пула хранения тромбоцитов,
 - вазоконстрикция,
 - ретракция кровяного сгустка
3. Ангиотрофическая – питание эндотелия путем передачи цитоплазмы.
4. Репаративная – выделение фактора роста тромбоцитов, вызывающего миграцию и деление фибробластов и макрофагов.

Формирование первичной тромбоцитарной пробки при повреждении сосуда условно проходит в 3 стадии:

1. Адгезия тромбоцитов к субэндотелию.
2. Активация тромбоцитов с выбросом медиаторов из пула хранения.
3. Агрегация тромбоцитов.

Адгезия тромбоцитов происходит непосредственно через рецепторы адгезии и через адгезию, опосредованную фактором Виллебранда (vWF) и другими молекулами адгезии (фибронектином, витронектином, ламинином, тромбоспондином). Фактор Виллебранда – один из самых высокомолекулярных гликопротеидов плазмы крови. Этот фактор синтезируется в эндотелии сосудов и мегакариоцитах. Белок неоднороден по составу и включает полимеры различной молекулярной массы. Часть белка поступает в кровь, часть остается в клетках в пуле хранения, часть связывается с мембранами субэндотелия. Наиболее высокомолекулярный и активный vWF находится в гранулах тромбоцитов. К функциям vWF относится:

- обеспечение адгезии тромбоцитов к поврежденной сосудистой стенке, особенно в условиях сильного тока крови (артерии, артериолы),
- связывание фактора VIII и защита его от разрушения протеином С.

Активация тромбоцитов проявляется в изменении формы (появление псевдоподий, распластывание тромбоцита), появлении на наружной мембране

избытка кислых фосфолипидов (РЗ), секреции веществ из пулов хранения, адгезии и агрегации тромбоцитов. При воздействии слабых стимуляторов (АДФ, адреналин и др.) активация может быть обратимой. Тромбоцит возвращается в неактивное состояние и может снова функционировать. При действии сильных стимуляторов (коллаген, тромбин и др.) и высвобождении из тромбоцитов проагрегантов возникает необратимая агрегация. Такой тромбоцит прочно связан с другими клетками, он потерял содержимое пулов хранения и не может вернуться в исходное состояние. В токе крови он функционировать не может и быстро элиминируется из кровообращения селезенкой.

Агрегация – это присоединение друг к другу активированных тромбоцитов. Она опосредована фибрином и фактором Виллебранда. Агрегированные и пронизанные фибрином тромбоциты составляют основу тромбоцитарного (белого) тромба, который формируется в течение нескольких минут. Образовавшийся тромб уплотняется за счет фибрилл миозина тромбоцитов, т.е. происходит ретракция (сжатие) сгустка.

Большую роль в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе играет арахидоновая кислота, которая содержится как в тромбоцитах, так и в эндотелиальных клетках (ЭК). Однако ее роль в указанных выше структурах различна. При активации тромбоцита арахидоновая кислота освобождается из фосфолипидов мембран. Из нее при участии фермента циклооксигеназы 1 (ЦОГ-1) образуется мощный прокоагулянт простагландинового ряда тромбоксан А₂, который обладает сосудосуживающим действием и способствует адгезии тромбоцитов. В эндотелиальных клетках из арахидоновой кислоты при участии того же фермента ЦОГ-1 образуется простациклин, который относится к простагландинам и обладает выраженным антиагрегантным действием. Различные механизмы превращения арахидоновой кислоты в тромбоцитах и ЭК физиологически оправданы, так как задача тромбоцитов - сформировать сгусток, а ЭК – предотвратить его образование.

Плазменный (коагуляционный) гемостаз.

В настоящее время условно выделяют 2 системы плазменного гемостаза: систему свертывания плазмы (коагуляция) и систему фибринолиза. Обе системы тесно взаимодействуют между собой и с тромбоцитарным гемостазом.

Коагуляционное звено гемостаза.

Система свертывания плазмы - это ферментативная протеолитическая система, осуществляющая образование фибриновой пробки в местах повреждения сосуда. Она состоит из ферментов, белковых катализаторов (кофакторов), ингибиторов свертывания плазмы, а также некоторых веществ небелковой

природы. Исторически белки плазмы крови, входящие в каскад свертывания крови (факторы), принято обозначать римскими цифрами. В последнее время из номенклатуры был исключен ряд факторов: фактор VI, так как он оказался активированным фактором V; фактор IV, ионы кальция, которые не белки; тканевой фактор (ранее тканевой тромбопластин, фактор III), который не является белком плазмы и в кровь поступает из тканей. Вновь открытые факторы не имеют римской символики (табл.2). Практически все факторы в плазме крови находятся в неактивном состоянии. Их активация проходит путем протеолиза. Для обозначения активированного фактора к его названию добавляется буква а (например, Ха).

Таблица 2.

Факторы свертывания плазмы крови

Символ	Название	Место синтеза	Концентрация в плазме	Гемостатический минимум
I	<i>Фибриноген</i>	Печень	2-4 г/л	0,5-1 г/л
II	Протромбин	Печень	100-150 мг/л	40%
V	<i>Проакцелерин</i>	Печень	7-10 мг/л	10-15%
VII	Проконвертин	Печень	0,4-0 мг/л	5-10%
VIII	<i>Антигемофильный глобулин А</i>	Печень	0,7 нмоль/л	30-35%
IX	Антигемофильный глобулин В	Печень	3-5 мг/л	20-30%
X	Фактор Стюарта-Прауэра	Печень	8-10 мг/л	10-20%
XI	Антигемофильный глобулин С	Печень	3-6 мг/л	10-20%
XII	Фактор Хагемана	Печень	25-35 мг/л	< 1%
XIII	Фибринстабилизирующий фактор	Макрофаги, мегакариоциты	20-30 мг/л	2-3%
ПК	Прекалликреин (ПК, ф. Флетчера)	Печень	30-50 мг/л	< 1%
ВМК	<i>Высокомолекулярный</i>	Печень	60-80 мг/л	< 1%

	<i>кининоген</i> (ВМК, ф. Фитцджеральда)			
--	---	--	--	--

Примечание: жирным в графе символов обозначены витамин К- и одновременно Ca^{++} -зависимые факторы, курсивом – белки, но не ферменты.

Большинство факторов является ферментами. К сериновым протеазам относятся факторы II, VII, IX, X, XI, XII, ПК; трансклотаминаза - фактор XIII. Факторы V, VIII и ВМК – это кофакторы белковой природы. Их роль заключается в ускорении реакций коагуляции.

Часть факторов являются витамин К-зависимыми и одновременно Ca^{++} -зависимыми. К ним относятся факторы II, VII, IX, X, протеины С и S. Эти белки синтезируются в печени и имеют сходную структуру молекулы. Для получения полноценных факторов необходима реакция γ -карбоксилирования глутамина, которая нуждается в присутствии активированной формы витамина К. Ca^{++} осуществляет контакт витамин К-зависимых факторов с фосфолипидами мембран, что делает данные белки функционально активными. Факторы, образованные в отсутствие витамина К, называют PIVKA-факторами (Protein Induced by Vitamin K Absence). Они функционально неполноценны.

Два последних фактора ПК и ВМК являются гликопротеидами и относятся к калликреин-кининовой системе. Калликреин-кининовая система – это протеолитическая система, которая участвует в регуляции активности каскадных протеолитических систем плазмы крови: кининогенеза, гемокоагуляции, фибринолиза, комплемента и ренин - ангиотензиновой системы, обеспечивающих процессы адаптации и защиты организма.

Деятельность протеолитических систем регулируют кинины, которые в плазме крови представлены неактивными предшественниками – кининогенами, в частности, ВМК. Образование активных кининов из кининогенов происходит под действием трипсиноподобных сериновых протеиназ - калликреинов, локализованных в плазме крови (плазменный калликреин) и тканях некоторых органов. Они также находятся в неактивном состоянии в форме предшественников. Прекалликреин - предшественник калликреина плазмы крови. В последнее время хорошо изучено участие компонентов калликреин-кининовой системы в активации контактной фазы свертывания крови. Установлено, что в контактной активации участвуют четыре белка: факторы XII, XI, прекалликреин и ВМК.

Схема свертывания плазмы крови с участием и активацией всех факторов подробно представлена в большинстве монографий. Без постоянного использования она быстро забывается, а при изучении вызывает затруднения. Это, по-видимому, связано как со сложностью системы, так и с относительно случайной нумерацией факторов, обусловленной последовательностью их открытия.

В конечном итоге свертывание плазмы крови заключается в превращении растворимого белка фибриногена в нерастворимый белок фибрин (рис.2). Последний образует фибриновую сетку, в которой застревают клетки крови, и формируется красный тромб. Время образования тромба около 30 мин. Для превращения фибриногена в фибрин необходимо наличие в плазме активного тромбина. Именно он в физиологических условиях запускает процесс полимеризации фибриногена. В плазме крови тромбин (IIa), как и другие факторы крови, находится в неактивном состоянии в форме предшественника – протромбина (фактор II). Наличие в плазме активного тромбина приводит к обязательному свертыванию плазмы крови. Поэтому тромбин называют основным фактором свертывания, а состояние пациента, имеющего свободный тромбин – тромбинемией. Наличие тромбинемии всегда связано с гиперкоагуляцией и опасностью тромбозов.

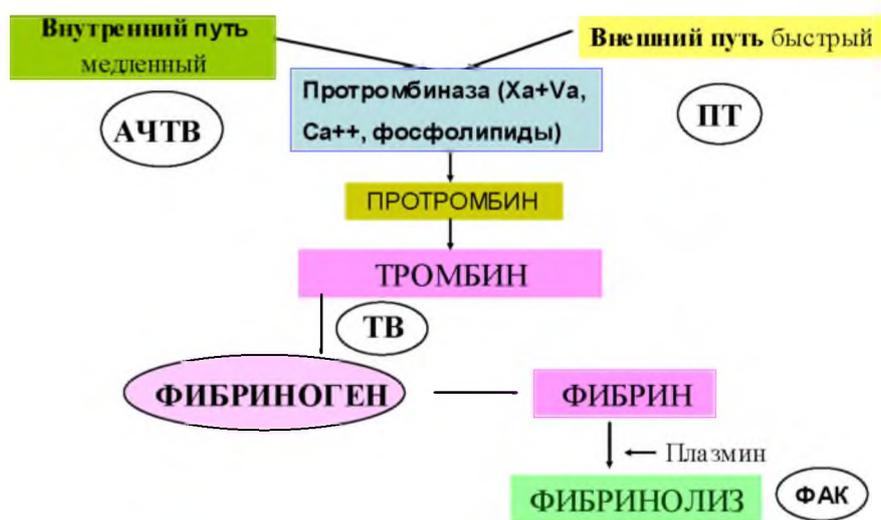


Рис. 2. Схема коагуляционного гемостаза

Примечание: овалами обведены основные тесты для оценки различных звеньев коагуляции.

Для образования тромбина (ф. IIa) необходимо активировать протромбин (ф. II). Активация протромбина происходит под действием протромбиназы. Протромбиназа включает активированные факторы Ха+Va, причем ферментативной активностью обладает фактор Ха, а фактор Va – белковый кофермент, который ускоряет реакцию в десятки тысяч раз. Превращение протромбина в тромбин происходит на кислых фосфолипидах мембран, где концентрируются факторы плазмы крови и ионы кальция, необходимые для взаимодействия факторов с фосфолипидами. Са⁺⁺ содержится в плазме и поступает

из тромбоцитов при их активации. В организме человека (*in vivo*) фосфолипиды представлены третьим фактором тромбоцитов (P3) и фосфолипидами мембран некоторых других клеток. При лабораторном исследовании гемостаза для фосфолипидзависимых тестов в состав набора обязательно входят фосфолипиды растительного или животного происхождения. Тесты, для проведения которых требуются фосфолипиды, называют фосфолипидзависимыми тестами (ПТ, АЧТВ, протеин С).

Активация протромбина происходит двумя путями: внутренним медленным (10-15 мин.) и внешним быстрым (10-15 сек.). При активации протромбина по внутреннему и внешнему пути участвуют различные факторы. Механизмы активации также различаются. Активация протромбина представляет собой многостадийный каскадный процесс, в котором активация одной молекулы предшествующего уровня приводит к активации десятков или сотен последующих молекул. Большую роль в усилении сигнала играют белковые кофакторы. В организме оба пути тесно взаимосвязаны. Для удобства оценки результатов исследования они условно разделены и оцениваются разными тестами. Для оценки внутреннего пути используется активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ, АПТВ), а для оценки внешнего пути – протромбиновое время (ПВ, он же протромбиновый тест - ПТ) (табл.3).

Активация свертывания плазмы по внутреннему пути называется так потому, что все факторы, необходимые для свертывания плазмы, находятся в плазме крови. Образование протромбиназы по внутреннему пути осуществляется контактной активацией. К факторам контактной фазы относятся фактор XII (Хагемана), фактор XI и ВМК с ферментом-активатором ПК. Считается, что активация свертывания начинается с контакта фактора Хагемана с отрицательно заряженной поверхностью твердого тела. В условиях организма это может быть коллаген, клеточные мембраны, нефизиологические поверхности, например, искусственные клапаны или протезы. В условиях *in vitro* в качестве активатора контактной фазы используют каолин, эллаговую кислоту и некоторые другие вещества. Далее активируется IX фактор (IXa) и его кофактор VIII (VIIIa). Факторы IXa+VIIIa образуют теназный комплекс (ten – десять), который активирует фактор X. Фактор X - фермент, а фактор V – его кофактор. Сумма факторов Xa+Va образуют протромбиназу, активность которой проявляется на фосфолипидах мембран тромбоцитов (P3) в присутствии Ca⁺⁺. Все четыре фактора вместе образуют протромбиназный комплекс (Xa+Va, P3, Ca⁺⁺).

Таблица 3.

Пути активации протромбина

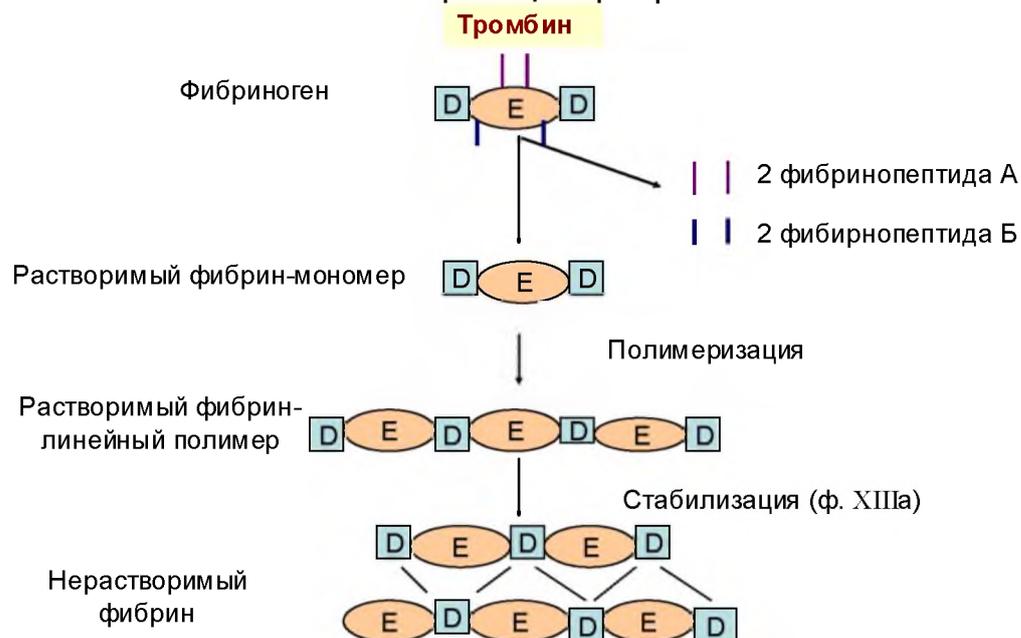
Путь	Активаторы	Факторы	Время
------	------------	---------	-------

Внутренний путь (медленный)	Контакт с коллагеном, мембранами клеток, ЦИК, и др.	XII, XI, ВМК, ПК IX+VIII Xa+Va, P3, Ca⁺⁺	15 мин
Внешний путь (быстрый)	Тканевой фактор (ТФ, мембранный гликопротеин клеток).	VII Xa+Va, P3, Ca⁺⁺	15 сек

Примечание: жирным шрифтом обозначен протромбиназный комплекс.

Активация протромбина по внешнему пути осуществляется тканевым фактором ТФ (ранее – тканевым тромбопластином), который находится вне сосудистого русла, поэтому путь называется внешним. Особенно богаты ТФ ЭК, легкие и мозговая ткань. Источником ТФ могут быть фагоциты, опухолевые клетки, атеросклеротические бляшки. ТФ контактирует с фактором VII и превращает его в фактор VIIa. Последний активирует фактор X (Xa), который при участии фактора Va, фосфолипидов и кальция формирует протромбиназный комплекс, активирующий протромин и превращение фибриногена в фибрин. Таким образом, результатом деятельности как внутреннего, так и внешнего пути плазменного гемостаза является формирование одного и того же протромбиназного комплекса. Однако процесс активации по внешнему пути значительно быстрее и включает 1 фактор и 1 этап активации вместо 5 факторов и 3-х этапов активации по внутреннему пути. Известно, что все факторы свертывания плазмы находятся в крови в неактивном состоянии. Исключение составляет фактор VII, 1-2% которого в плазме крови активированы. Все вышеуказанное объясняет быстрое свертывание крови по внешнему пути, который в настоящее время считается основным физиологическим механизмом запуска процесса свертывания плазмы.

Рис. 3. Полимеризация фибриногена



Ранее указывалось, что основой свертывания плазмы крови является превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина (ф. IIa). Фибриноген – белок, который обладает уникальной способностью полимеризоваться в токе крови. Он синтезируется в гепатоцитах и, возможно, немного в мегакариоцитах. Высокая концентрация фибриногена в плазме крови (2-4 г/л) обусловлена его функцией. Белок состоит из 3-х пар полипептидных цепей (2α , 2β , 2γ), которые образуют 3 домена: центральный E и два периферических D. Превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина проходит несколько этапов (рис. 3):

- Образование мономеров фибрина в результате отщепления двух фибринопептидов A и двух фибринопептидов B (2 ФПА + 2 ФПВ).
- Спонтанная полимеризация мономеров фибрина с образованием растворимых фибрин-мономерных комплексов (волокна фибрина, растворимый фибрин, фибрин S –soluble, так как он растворяется в 5-7 М растворе мочевины и монохлоруксусной кислоте).
- Стабилизация фибринового волокна ф. XIIIa с образованием перекрестных изопептидных связей. Образуется сеть взаимодействующих фибриновых волокон, способных удерживать тромбоциты на месте травмы (нерастворимый фибрин, фибрин i - insoluble). Ф. XIIIa активируется тромбином.
- Ретракция (сокращение) сгустка происходит за счет сократительных белков тромбоцитов. При отсутствии тромбоцитов или дефекте рецептора Гп IIbIIIa

ретракция снижается, тромб быстро лизируется (гиперфибринолиз), при этом повышается вероятность отрыва тромба с последующей тромбэмболией удаленных сосудов.

При полимеризации фибриногена образуются промежуточные продукты, часть из которых не включается в состав нерастворимого фибрина. Они присутствуют в плазме крови в виде фибрин-мономеров и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). У здорового человека фибрин-мономеров практически нет, а РФМК присутствуют в незначительном количестве, так как процесс свертывания крови идет постоянно, но носит локальный характер.

Ингибиторы ферментов системы гемостаза (антикоагулянты).

Для предотвращения генерализации процесса свертывания крови, который идет в организме человека постоянно, в плазме присутствуют ингибиторы ферментов системы гемостаза. Их природа и механизм действия различны, но цель одна: сохранить процессы свертывания крови в пределах физиологической нормы.

Известны следующие ингибиторы: антитромбин (ранее антитромбин III, АТ), система протеина С (читается «си»), кофактор гепарина II – нейтрализация тромбина, С1-ингибитор - контроль контактной фазы внутреннего пути гемостаза, α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулин. В последнее десятилетие открыт ингибитор пути тканевого фактора или ингибитор внешнего пути (ИПТФ, TFPI). Однако наибольшее значение для гемостаза имеет АТ и система протеина С.

Антитромбин (АТ) - это гликопротеин, который синтезируется в печени. Он образует стабильный комплекс с сериновыми протеазами и ингибирует несколько ферментов, однако наиболее активен по отношению к тромбину и ф. Ха. Одновременно антитромбин может связываться с гепарином. Гепарин в физиологических условиях вырабатывается тучными клетками и, при необходимости, секретировается в кровоток. Активность АТ усиливается гепарином в тысячи раз. Гепарин оказывает на АТ каталитическое действие, вызывая конформационные изменения АТ. После образования тромбин-антитромбинового комплекса (ТАТ) гепарин может освобождаться для организации других комплексов. Несмотря на то, что АТ присутствует в плазме в избытке, при снижении его уровня до 60% возрастает риск развития тромбозов.

Система протеина С инактивирует путем лизиса в присутствии Ca^{++} кофакторы ферментов Va и VIIIa, расположенные на фосфолипидных мембранах. Система включает протеин С, который синтезируется в печени, является витамин-К-зависимой сериновой протеазой и активируется тромбином, его кофактор протеин S, мембранный белок тромбомодулин, рецептор протеина С и С4-связывающий протеин. Протеин S – это витамин К-зависимый белок, который

синтезируется в печени. 40% белка в плазме находится в свободном состоянии, а 60% - в связанном с компонентом комплемента C4b. В качестве кофактора может действовать только свободный протеин S.

Недостаток факторов системы протеина С приводит к риску развития венозных и артериальных тромбозов - тромбофилии. Система протеина С активно реагирует на воспалительные процессы в организме, особенно вызванные грамотрицательными микробами. Медиаторы воспаления подавляют и инактивируют компоненты системы протеина С, вызывая гиперкоагуляцию.

Кроме физиологических антикоагулянтов, которые также называют первичными, в системе гемостаза присутствуют вторичные антикоагулянты. К ним относятся РФМК и другие продукты деградации фибрина/фибриногена (ПДФ). Их роль возрастает при массивном тромбообразовании и ДВС-синдроме.

Система фибринолиза.

В процессе образования гемостатической пробки активируются механизмы, направленные на ограничение роста тромба, его растворение и восстановление тока крови. Эти функции выполняет система фибринолиза, которая относится к одной из пяти протеолитических систем плазмы крови. Фибринолиз - основной эндогенный механизм, предотвращающий тромбообразование.

Ключевым ферментом системы фибринолиза является плазмин. В плазме крови он присутствует в виде неактивного профермента плазминогена, одноцепочечного гликопротеида, который синтезируется в печени, немного в почках, эозинофилах и роговице. Основная задача плазмينا - растворять фибрин. Однако при высокой активности он может расщеплять фибриноген, некоторые факторы свертывания крови и компоненты системы комплемента. В физиологических условиях деятельность плазмينا ограничена зоной тромбообразования. При патологических состояниях фибринолиз может быть генерализованным (гиперфибринолиз, активный фибринолиз, фибринолитическое состояние). В результате гиперфибринолиза накапливаются продукты деградации фибрина/фибриногена (ПДФ), клинически у пациента наблюдается кровотечение.

Уровень и активность плазмينا в организме жестко регулируется и включает активаторы и ингибиторы фибринолиза. Их взаимодействие позволяет ограничить рост тромба и лизировать его. Фрагменты фибрина, образовавшиеся при лизисе сгустка, далее утилизируются лейкоцитами и макрофагами (клеточная составляющая фибринолиза).

Активация плазминогена, аналогично активации протромбина, осуществляется по внутреннему и внешнему пути.

Внутренний путь представляет контактную активацию, в которой участвуют указанные ранее факторы контактной активации: XII, XI, ВМК, ПК. К внутренним активаторам относится урокиназа (u-РА), которая синтезируется и выделяется клетками разных органов, в том числе почками, фибробластами, макрофагами и эндотелиальными клетками (ЭК).

Основной путь активации плазминогена – внешний под действием активатора плазминогена тканевого типа (t-РА, ТАП), поступающего из эндотелиальных клеток. Исследования показали, что главным стимулятором выделения ТАП является брадикинин, который образуется из ВМК при расщеплении его калликреином.

Нефизиологическими активаторами плазминогена могут быть стрептокиназа гемолитического стрептококка и ферменты других бактерий.

Плазмин в кровотоке быстро инактивируется естественными ингибиторами. Различают два вида ингибиторов:

- антиплазмины (α_2 -антиплазмин, α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин и др.),
- ингибиторы активаторов плазминогена (РАI-1, РАI-2, РАI-3).

Основной ингибитор плазмина - α_2 -антиплазмин. Он синтезируется в печени и относится к ингибиторам сериновых протеаз.

Среди ингибиторов активаторов плазминогена наибольшее значение имеет РАI-1. Он ингибирует t-РА, u-РА и стрептокиназу. Продуцируется ЭК, клетками гладких мышц, мегакариоцитами и мезотелиальными клетками; депонируется в тромбоцитах. Синтез РАI-1 стимулируется эндотоксинами бактерий, провоспалительными цитокинами, тромбином и другими факторами, поэтому его уровень возрастает при многих патологических состояниях. Основная задача РАI-1 – ограничить фибринолиз местом тромба за счет ингибирования t-РА. Это легко выполняется за счет высокого содержания РАI-1 в сосудистой стенке.

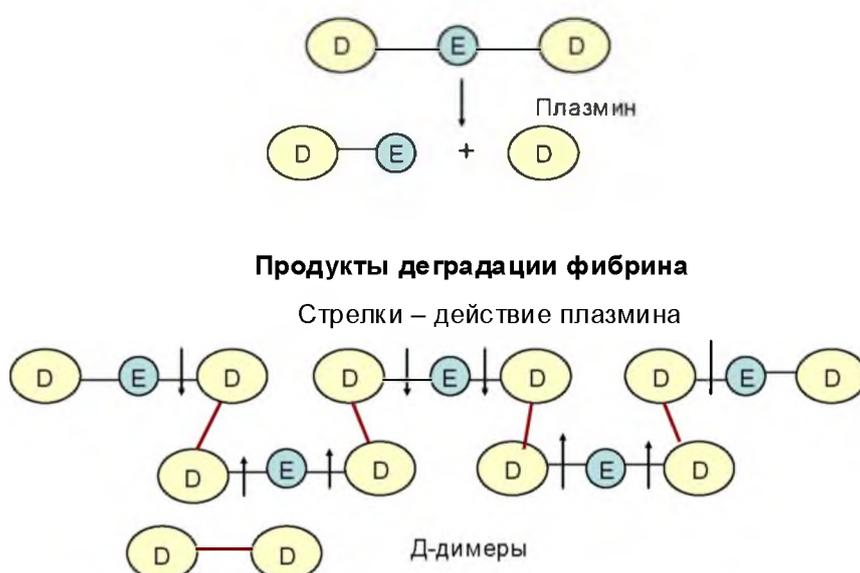
Лизис фибринового сгустка.

Плазмин является активной, но достаточно неспецифичной сериновой протеазой. Хотя основная его функция – лизис фибрина, плазмин также хорошо расщепляет фибриноген, особенно при его высоком содержании, активации плазмина или недостатке его ингибиторов (рис.4).

При деградации фибрина и фибриногена образуются низкомолекулярные продукты, которые называются продуктами деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) и являются вторичными антикоагулянтами. При деградации фибриногена его молекула расщепляется на D, E и DE фрагменты. При расщеплении

нерастворимого фибрина, имеющего поперечные изопептидные связи, образуются DD- фрагменты, которые называются Д-димерами. Таким образом, при наличии фибринового сгустка повышается уровень Д-димеров, что характерно для тромбозов и тромбэмболий, в том числе и тромбэмболии легочной артерии (ТЭЛА). Другие низкомолекулярные продукты образуют растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК). Рост РФМК может наблюдаться при активации процессов свертывания крови, при высоком уровне фибриногена, при повышенном фибринолизе и фибриногенолизе и некоторых других состояниях. Уровень фибрин-мономера у здоровых людей и при большинстве видов патологии не повышается, так как он быстро полимеризуется или расщепляется. Увеличение фибрин-мономеров наблюдается практически только при ДВС-синдроме.

Рис.4. Продукты деградации фибриногена



Особенности гемостаза женщин при менструации и беременности.

В детородном периоде у женщин ежемесячно наблюдается менструация – физиологическое кровотечение из матки. Кровотечение поддерживается двумя основными механизмами: ингибированием простагландинами агрегации тромбоцитов и активацией фибринолиза. При менструации эндотелиальные клетки выделяют большое количество тканевого активатора пламиногена (t-PA). В крови из матки также обнаружено высокое содержание проурокиназы. Т-РА и урокиназа путем активации пламиногена разрушают образующийся в менструальной крови фибрин, и сгусток не формируется. Усиление фибринолиза является локальным процессом, ограниченным пределами матки.

При беременности изменения в системе гемостаза появляются со 2-3 месяца и продолжают с прогрессивным увеличением вплоть до родов (табл.4). У беременных женщин формируется гиперкоагуляция и снижение фибринолиза, которые наиболее ощутимы в 3-м триместре. Снижение фибринолиза связано с увеличением содержания ингибиторов активаторов плазминогена 1-го и 2-го типа (РАI-1 и РАI-2).

В период беременности:

- повышается активность факторов VII, VIII, IX, X и уровня фибриногена,
- повышается содержание фактора Виллебранда и агрегация тромбоцитов,
- снижается фибринолитическая активность,
- снижается антикоагулянтная активность (снижение АТ III, протеин S),
- снижается скорость венозного кровотока и повышается вязкость крови за счет роста содержания фибриногена и иммуноглобулинов,
- снижается тонус венозной стенки из-за гормональной перестройки организма.

Таблица 4

Некоторые показатели гемостаза беременных

Показатели	Не	Беременность	Беременность	Беременность
	беременные	1 триместр	конец 2 триместра	конец 3 триместра
Фибриноген г/л	2-4	2-5	3-5	4,5-6
АЧТВ сек	41,5 ± 3,8	39,2 ± 4,1	36,5 ± 2,1	34,1 ± 2,5
ПТИ %	85,5 ± 3,4	89,3 ± 4,5	95,4 ± 5,3	108,8 ± 3,3
ПДФ мкг/мл	до2			5,7 ± 0,9
АТ III г/л	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,02
Тромбоциты тыс/мл	295 ± 32	302 ± 15	288 ± 12	250 ± 14

Гиперкоагуляция при беременности – это физиологическое состояние, которое обеспечивает имплантацию яйцеклетки, соответствующее соединение плаценты с маткой и остановку кровотечения во время родов. В то же время беременность повышает риск возникновения венозных тромбозов.

В ряде случаев нарушения в системе свертывания крови приводят к развитию синдрома потери плода (СПП). При выраженных нарушениях в системе гемостаза необходимо исключить наследственный фактор. Геморрагии у беременных встречаются крайне редко и связаны, как правило, с наследственными дефектами факторов свертывания. Тромбофилии отмечаются значительно чаще, и основная их причина – наличие антифосфолипидного синдрома (АФС).

ПАТОЛОГИЯ ГЕМОСТАЗА

Исследования показали, что подавляющее большинство заболеваний сопровождается нарушениями в системе гемостаза. Патология гемостаза выражается либо гипокоагуляцией, либо гиперкоагуляцией, в ряде случаев смешанными нарушениями. Гипокоагуляция встречается сравнительно реже. Диагностика причин гипокоагуляции не всегда возможна в рамках стандартной, даже расширенной гемостазиограммы. Как правило, такие больные обследуются в специализированных лечебных учреждениях. Гиперкоагуляцией страдает большое число пациентов. Она проявляется у пациентов в виде тромбозов, тромбэмболий или тромбофилического состояния. Диагностика, лечение и контроль терапии, как правило, проводятся в лечебных учреждениях общего профиля.

Гипокоагуляция. Геморрагические заболевания.

Гипокоагуляция клинически проявляется геморрагическим синдромом - различного рода кровоизлияниями или кровотечениями, поэтому заболевания называются геморрагическими. Они могут быть связаны

- с патологией тромбоцитов,
- с падением ниже порога коагуляции факторов свертывания крови,
- с ингибированием факторов свертывания крови,
- с гиперфибринолизом,
- с патологией структуры капилляров.

Заболевания могут быть врожденными или приобретенными.

Патология тромбоцитарного звена.

Патология тромбоцитов выражается либо тромбоцитопенией (снижением содержания тромбоцитов), либо тромбоцитопатией – нарушением их функции. При

данных видах патологии изменяется как минимум тромбоцитарно-сосудистое звено гемостаза. Такая патология, как правило, сопровождается микроциркуляторным петехиально-синячковым типом кровоточивости, при котором наблюдается появление петехий и мелких синячков на коже конечностей и туловища, носовые кровотечения, меноррагия, гематурия. Нарушения могут быть наследственными или приобретенными. Тромбоцитоз – повышение уровня тромбоцитов. Он может сопровождаться геморрагиями или тромбозами в зависимости от сохранности функции тромбоцитов. Тромбоцитоз имеет только приобретенный характер.

Тромбоцитопения – снижение содержания тромбоцитов ниже 150 тыс./мл.

Основные наследственные тромбоцитопении: синдромы Фанкони, Вискотта-Олдриха, аномалия Мэя-Хегглина.

Приобретенная тромбоцитопения может быть связана:

- с нарушением образования тромбоцитов при системных гематологических заболеваниях,
- с повышенным потреблением кровяных пластинок (ДВС-синдром, ангиоматоз).
- с повышенным разрушением тромбоцитов (гиперспленизм, ВИЧ-инфекция, системная красная волчанка, введение лекарств, том числе гепарина, повторные гемотрансфузии и др.). В большинстве случаев данный вид тромбоцитопении связан с иммунной патологией.

При подозрении на тромбоцитопению проводят подсчет тромбоцитов, оценивают их размер, определяют время кровотечения. При аутоиммунных процессах характерно появление гигантских тромбоцитов. Время кровотечения у большинства пациентов с тромбоцитопенией удлинено.

Тромбоцитопатии – объемная группа разнородных заболеваний. Большое место в этой группе занимают врожденные нарушения функции тромбоцитов: дефекты рецепторов тромбоцитов (например, дефект Гп Ib – синдром Бернара-Сулье, дефект Гп IIbIIIa – тромбастения Гланцмана), аномалии гранул пула хранения, нарушение метаболизма арахидоновой кислоты.

Болезнь Виллебранда связана с мутацией фактора vWF и является следствием качественных или количественных нарушений фактора Виллебранда. Строго говоря, она не относится к тромбоцитопатиям, но аномальный фактор нарушает адгезию тромбоцитов и приводит к появлению геморрагического синдрома, проявления которого зависят от типа болезни. Болеют как мужчины, так и женщины.

Нарушение функции тромбоцитов, снижение их тромбопластической активности и, как следствие, повышенную кровоточивость могут вызывать лекарства, системные гематологические заболевания, уремия, парапротеинемия и дисглобулинемия.

Доступными методами оценки тромбоцитарного звена гемостаза являются: подсчет количества тромбоцитов, определение их размера, оценка морфологии кровяных пластинок и определение времени кровотечения. Количество тромбоцитов при патологии кровяных пластинок может быть нормально или снижено, время кровотечения чаще удлинено. При тромбоцитопатиях, связанных с дефектом пула хранения белковых гранул, нарушается прокрашивание этих гранул в мазке крови (синдром «серых» тромбоцитов). При некоторых тромбоцитопатиях удлиняется АЧТВ и ПВ (протромбин в % по Квику, соответственно, снижается). В условиях специализированного лечебного учреждения для дифференциальной диагностики определяют дополнительно содержание фактора Виллебранда, фактора VIII, оценивают агрегацию тромбоцитов с адреналином, АДФ, коллагеном, ристоцетином, арахидоновой кислотой и другими индукторами агрегации.

Геморрагические коагулопатии.

К данной группе патологии относятся заболевания, обусловленные дефицитом или ингибированием факторов свертывания крови и гиперфибринолизом.

Дефицит факторов может быть врожденным, генетически обусловленным, или приобретенным. Врожденный дефицит факторов сопровождается кровоточивостью гематомного типа. При данном типе кровоточивости при небольших ушибах возникают кровоизлияния в полости суставов, живота, под фасции и др. У больных наблюдается отсроченное (через 1-2 ч) кровотечение из раны после операции, длительное кровотечение из лунки после удаления зуба. Иногда встречается смешанный гематомно-микроциркуляторный или микроциркуляторный тип кровоточивости.

Врожденный дефицит факторов обусловлен генетическими нарушениями. В настоящее время выявлены заболевания, связанные с дефектами всех факторов свертывания плазмы, хотя встречаются они крайне редко. Наиболее распространенными являются гемофилия А (недостаток фактора VIII, частота встречаемости 100 больных на 1 млн. населения), и гемофилия В (недостаток фактора IX, частота встречаемости 20 больных на 1 млн. населения). Оба вида гемофилии сцеплены с полом, поэтому болеют только мальчики. Впервые болезнь была описана в Вавилонском Талмуде в 5 веке в связи с наличием случаев смертельного кровотечения у мальчиков после обрезания. Гемофилия представляет

собой выраженное нарушение свертывания крови с кровоизлияниями в подкожную клетчатку, суставы и мышцы и последующим повреждением данных органов и нервов. Кровотечения у гемофиликов без лечения приводят к смерти.

Приобретенная гипокоагуляция может быть связана с потреблением факторов (ДВС-синдром), наличием ингибиторов к факторам, с гиперфибринолизом, с лечением антикоагулянтами, с патологией печени и с некоторыми другими заболеваниями.

Наиболее частой и клинически важной причиной гипокоагуляции является дефицит витамин К-зависимых факторов. Витамин К частично синтезируется в кишечнике, частично поступает с пищей. Он относится к жирорастворимым витаминам, поэтому для его всасывания необходимо присутствие желчных кислот желчи как эмульгаторов жиров, и панкреатической липазы. При дефиците витамина К, врожденном или приобретенном, в печени нарушается синтез витамин-К-зависимых факторов – II, IX, X и II, а также протеинов С и S. Витамин К необходим на последней стадии образования факторов. Факторы, образующиеся без Витамина К, не могут обеспечивать полноценный гемостаз. Они называются PIVKA-факторами и могут быть определены иммунологическими методами.

Причинами дефицита полноценных витамин-К-зависимых факторов могут быть:

- нарушение синтеза витамина К у недоношенных новорожденных,
- недостаточное поступление витамина К из кишечника при дисбактериозах, длительном приеме антибиотиков широкого спектра действия, при резекции тонкой кишки,
- нарушение всасывания витамина К при холестазах,
- прием антагонистов витамина К – оральных антикоагулянтов (варфарин и др.).

Гипокоагуляция с геморрагией может проявляться при ряде общих и системных заболеваний и состояний. Заболевания печени с нарушением синтетической функции приводят к снижению всех факторов, кроме XIII (см. табл.2). При амилоидозе наблюдается дефицит фактора X, связанный с поглощением данного фактора амилоидом. При нефротическом синдроме снижается уровень фактора VII в связи с избыточным выделением данного фактора с мочой. При некоторых видах патологии наблюдается появление антител к различным факторам, что приводит к ингибированию факторов, появлению геморрагического синдрома и удлинению времени свертывания в тех тестах, где данный фактор задействован. Наличие антител к факторам фиксировалось при лейкозах, миелодисплазиях, солидных опухолях, иммунно-аллергических

синдромах, при укусах ос, на конечном этапе беременности и в раннем послеродовом периоде, и др. Наиболее часто антитела образуются к факторам VIII и Виллебранда, а также к факторам IX, V, VII и II.

Первичное выявление геморрагической коагулопатии возможно после проведения тестов стандартной коагулограммы по удлинению времени свертывания плазмы в том тесте, в котором участвует дефицитный фактор. Так, при дефиците фактора VII удлиняется ПВ, а при дефиците факторов VIII, IX и XI – АЧТВ, при дефиците протромбина (фактор II) будут удлинены оба показателя и т.д. В специализированных лечебных учреждениях дифференциальная диагностика осуществляется путем проведения уточняющих тестов.

Парапротеины и криоглобулины, которые образуются наиболее часто при иммунокомплексных заболеваниях и неопластических процессах, нарушают не только функции тромбоцитов, как указывалось ранее, но и влияют на результаты некоторых тестов плазменного гемостаза. Удлинение времени свертывания плазмы в тромбиновом тесте при нормальном содержании фибриногена и отсутствии тромбинемии (ПДФ и РФМК не увеличены), как правило, связано с парапротеинами, которые нарушают взаимодействие тромбина с фибриногеном и препятствуют полимеризации фибрина. Одновременное удлинение АЧТВ и ПВ в ряде случаев может быть обусловлено наличием криоглобулинов.

Одной из причин геморрагической коагулопатии является гиперфибринолиз (активный фибринолиз, фибринолитическое состояние). В физиологических условиях плазмин в кровотоке нейтрализуется естественными ингибиторами, и фибринолиз ограничен зоной фибринообразования, то есть гемостатической пробкой. Фоновая активность фибринолиза в плазме крови достаточно мала. У женщин во время менструации наблюдается локальная активация фибринолиза в сосудах матки, что обеспечивает отсутствие сгустков и беспрепятственное вытекание крови. При патологических состояниях фибринолиз может быть генерализованным, охватывая и фибрин сгустка, и фибриноген плазмы крови. Клинически гиперфибринолиз проявляется кровотечениями, а при истощении плазминогена – тромбозами.

Выделяют первичный и вторичный гиперфибринолиз. Первичный гиперфибринолиз вызывается гиперплазминемией при поступлении в кровь больших количеств активаторов плазминогена. Он может быть вызван физической нагрузкой, стрессом или венозным стазом, опухолями, которые выделяют активаторы фибринолиза (опухоли яичников, поджелудочной железы, простаты, кишечника, промиелоцитарный лейкоз), хирургическими вмешательствами на органах, богатых активаторами фибринолиза (легкие, предстательная, поджелудочная и щитовидная железы). Крайне редко гиперфибринолиз наблюдается при наследственном избытке тканевого активатора плазминогена (t-

РА) или при наследственном недостатке основного ингибитора плазмина α_2 -антиплазмина.

Вторичный фибринолиз развивается в ответ на внутрисосудистое свертывание крови, тромбэмболические процессы различной локализации или введение фибринолитиков (стрептокиназа, актилизе и др.). Активация фибринолиза также наблюдается при массивных переливаниях консервированной крови, множественных травмах, сепсисе.

Лабораторно гиперфибринолиз можно выявить в тесте с лизисом эуглобулинового сгустка (фибринолитическая активность - ФАК) и методом тромбоэластографии или тромбоэластометрии. Возможно определение уровня плазминогена.

Гиперкоагуляция.

Состояния, связанные с гиперкоагуляцией, встречаются часто, их диагностика и лечение в большинстве случаев проводится в рамках лечебных учреждений общего профиля.

Для пациентов данной группы характерно понятие тромбофилии – склонности к тромбообразованию, повышению вязкости крови, агрегации тромбоцитов, снижению антикоагуляционного потенциала. Тромбофилия может приводить к развитию артериальных и венозных тромбозов и тромбэмболий.

Артериальные и внутрисердечные тромбозы, как правило, обусловлены изменением сосудистой стенки, например, при атеросклерозе, и активацией тромбоцитов. Артериальные тромбозы также могут быть связаны с наличием волчаночного антикоагулянта или со снижением уровня антикоагулянтов. Обычно это пристеночные белые тромбы, склонные к отрыву. Клинически артериальные тромбозы проявляются прекращением функции пораженного тромбозом органа, например, инфарктом миокарда или инсультом.

Появление венозных тромбозов связано с гиперкоагуляцией и стазом крови. Это чаще красные тромбы, полностью закрывающие просвет сосуда. Клинически венозный тромбоз проявляется в виде болевого синдрома с местным покраснением и повышением температуры.

Как при артериальном, так и при венозном тромбозе, особенно при тромбозе глубоких вен бедра, может быть отрыв тромба с последующей тромбэмболией легочной артерии (ТЭЛА), сосудов мозга (ишемический инсульт) и других мелких или крупных сосудов. Тромбэмболия при артериальных тромбозах может быть вызвана нарушением ритма сердечных сокращений, например, мерцательной аритмией.

Появление тромботических осложнений связывают как с наследственными, так и с приобретенными факторами.

Приобретенные факторы можно условно разделить на 2 группы: факторы, связанные с особенностями физиологии и образом жизни (возраст, пол, диета, курение, гиподинамия, повышенная масса тела, беременность), и вторичные нарушения, обусловленные другим заболеванием.

Классификация основных видов тромбофилий.

1. Гемореологические формы при миелопролиферативных заболеваниях, полиглобулиях, нарушениях объема и формы эритроцитов (гемоглобинопатии, ферментопатии и др.), при повышенной вязкости крови (парапротеинемии, гиперфибриногенемии, гаммапатии).
2. Формы, связанные с сосудисто-тромбоцитарным гемостазом: тромбоцитозы, повышенная агрегация тромбоцитов, увеличение продукции фактора Виллебранда, липкие тромбоциты и др.
3. Формы, обусловленные дефицитом или аномалиями физиологических антикоагулянтов: дефицит и аномалии антитромбина, протеина С и S и др.
4. Формы, связанные с дефицитом, гиперпродукцией или аномалиями плазменных факторов свертывания крови.
5. Формы, связанные с нарушением фибринолиза.
6. Метаболические формы (атеросклероз, сахарный диабет, гиперлипидемия, гиперлипопротеинемия (а), гипергомоцистеинемия).
7. Аутоиммунные и инфекционно-иммунные формы (антифосфолипидный синдром, аллергозы и другие иммунные заболевания, иммунные и вирусные тромбоваскулиты, тромбгеморрагические лихорадки, бактериальный эндокардит и другие виды хроносепсиса).
8. Паранеопластические тромбэмболические синдромы (тромботические осложнения при всех видах рака, хирургических и химиотерапевтических вмешательствах).
9. Ятрогенные формы (катетеризация, протезы сосудов, кавальные фильтры, трансплантация стволовых клеток, лекарственные формы – лечение концентратами активированных факторов, гепарином, активаторами плазминогена, прием гормональных контрацептивов и др.).
10. Комбинированные формы.

Таким образом, большинство пациентов стационара и широкий контингент поликлинических больных нуждаются в определении параметров свертывания крови и дальнейшем мониторинге коагуляции. *Тромбофилические состояния могут быть выявлены с помощью лабораторных тестов, отражающих склонность к гиперкоагуляции.*

Для обследования больных с подозрением на тромбофилию, используют две группы тестов. В первую группу входят маркеры активации свертывания крови. Эти тесты, как правило, доступны обычной клинико-диагностической лаборатории. Они позволяют выявить гиперкоагуляцию, но не дают информации об ее причинах. К данной группе тестов относится ПВ (укорочение), АЧТВ (укорочение),

фибриноген (рост), ТВ (изменение), маркеры тромбинемии (увеличение РФМК, ПДФ, Д-димеров).

Тесты на выявление причин тромбофилии проводятся в большинстве случаев после постановки тестов первой группы и купирования тромбоза. Например, определение концентрации гомоцистеина или выявление наследственной аномалии факторов. К сожалению, причина тромбофилии устанавливается далеко не во всех случаях.

В последнее время большое внимание уделяется гипергомоцистеинемии и антифосфолипидному синдрому.

Гипергомоцистеинемия является доказанным фактором риска развития как артериального, так и венозного тромбоза. Молекулярные механизмы тромбогенного действия гомоцистеина не идентифицированы.

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, промежуточный продукт обмена незаменимой аминокислоты метионина.

Гипергомоцистеинемия может быть

- врожденной, связанной с дефицитом одного из ферментов превращения гомоцистеина,
- приобретенной, обусловленной недостатком витаминов В₁₂, В₆, и/или фолиевой кислоты, а также применением лекарств, нарушающих функции ферментов или обмен витаминов.

Тяжелая врожденная гипергомоцистеинемия приводит к рецидивирующим артериальным и венозным тромбозам, которые проявляются с детства. Индивидуальный риск развития тромбоза при гипергомоцистеинемии повышается в 3-10 раз.

Референтные пределы содержания гомоцистеина в плазме крови зависят от методики анализа, доступный метод определения – ИФА.

Антифосфолипидный синдром (АФС) - особый синдром, в основе которого лежит развитие аутоиммунной реакции на отрицательно заряженные фосфолипидные детерминанты на мембранах тромбоцитов, эндотелия, нервных клеток и связанные с фосфолипидами этих мембран гликопротеиды. Синдром относится к аутоиммунным тромбогенным гемофилиям как одна из гипокоагуляционных форм. АФС – частая причина приобретенных иммунных тромбофилий. Для синдрома характерно сочетание тромботических и ишемических проявлений с умеренной тромбоцитопенией. У женщин АФС встречается чаще. Патогенез АФС окончательно не установлен.

При АФС наблюдаются повторные тромбозы вен, тромбозы артерий. Акушерская патология проявляется привычным выкидышем (44%), тромбозом

сосудов плаценты, внутриутробной гибелью плода, преэклампсией. У пациентов с АФС могут быть поражения нервной системы, головки бедра, кожи, изменения в сердце и сосудах.

При АФС появляются аутоиммунные антитела, которые ингибируют активацию протромбина и вызывают гипокоагуляцию в фосфолипидзависимых коагуляционных тестах без специфического угнетения какого-либо фактора свертывания крови.

У больных с АФС в крови появляются:

1. Антитела к мембранным фосфолипидам – кардиолипину, фосфатидилсерину и др., поэтому синдром иногда называют антикардиолипиновым. Пациенты с АФС могут иметь положительную реакцию Вассермана, так как кардиолипин является реагентом.

2. Антитела к гликопротеидам, связанным с фосфолипидами (аннексину V, β 2-гликопротеину-I, протромбину).

3. Волчаночные антикоагулянты (ВА).

Волчаночные антикоагулянты – это группа антифосфолипидных антител всех классов иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), которые удлиняют время свертывания плазмы в фосфолипидзависимых тестах, таких как протромбиновый тест и АЧТВ. Антикоагулянты названы волчаночными потому, что впервые были обнаружены Conley и Hartman, 1952г, при исследовании крови больных системной красной волчанкой (СКВ). Кроме АФС и СКВ, волчаночные антикоагулянты могут быть обнаружены при других аутоиммунных заболеваниях.

Таким образом, для АФС характерно состояние гиперкоагуляции в организме при гипокоагуляции в фосфолипидзависимых тестах на фоне умеренной тромбоцитопении.

Различают 3 вида антифосфолипидного синдрома (табл. 5).

Таблица 5

Классификация антифосфолипидных синдромов

Название	Характеристики
Первичный АФС	Нет проявлений «фонового» иммунного заболевания. <i>Иногда обнаруживают а/т к ДНК, рост циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Впоследствии может проявиться СКВ или другие коллагенозы</i>

Вторичный АФС	Осложнение «фонового» иммунного системного заболевания (СКВ, РА, склеродермия и др.), вирусные инфекции, опухоли, прием лекарств (прокаинамид, хинидин, хлорпромазин)
Катастрофический АФС	Быстро прогрессирующий политромботический синдром с циркуляцией в крови ВА и/или антифосфолипидных антител. Лечению не поддается и заканчивается летальным исходом

Основными клиническими признаками для прицельного обследования пациента на наличие АФС являются тромбозы, ишемии органов, акушерская патология. К дополнительным признакам относится присутствие иммунной патологии, тромбоцитопения, положительная RW.

Для правильной диагностики АФС необходимо проводить лабораторное обследование, включающее:

- Выявление антител к кардиолипину и фосфатидилсерину в высоком титре.
- Выявление антител к гликопротеидам (протромбин и др.).
- Выявление антикоагулянтов волчаночного типа.

Антитела к фосфолипидам и гликопротеидам обнаруживают с помощью иммуноферментного анализа. Эффект волчаночного антикоагулянта выявляют клоттинговыми методами в фосфолипидзависимых тестах. Выявление ВА проходит в 2 этапа: проведение скрининговых тестов, обнаруживающих эффекты, связанные с ВА, и подтверждающих тестов, которые устанавливают, что гипокоагуляция в скрининговых тестах корректируется добавлением тромбоцитарных фосфолипидных мембран или эритрофосфатида.

Обследование пациента на АФС должно быть комплексным. Один иммунологический тест не обеспечивает надежного распознавания АФС. Ошибка составляет от 35 до 60%.

Для лечения АФС используют антикоагулянты прямого и непрямого действия, антиагреганты, иммуносупрессоры цитостатического действия, дискретный плазмаферез.

Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) является универсальным процессом, который проявляется при критических и терминальных состояниях. Впервые процесс был описан классиком

средневековой восточной медицины Абу-Ибрахимом Джурджани в 1110г., а расшифрован в 60-х годах прошлого века исследованиями М.С. Мачабели и других авторов.

ДВС-синдром отражает срыв механизмов адаптации гемостаза и генерализацию процесса свертывания крови. Механизм развития ДВС-синдрома обусловлен активацией свертывающей системы крови и тромбоцитарного гемостаза с последующим их истощением (коагулопатия и тромбоцитопения потребления). Активация и истощение касается всех других плазменных протеолитических систем – фибринолитической, калликреин-кининовой, комплемента, ренин-ангиотензиновой.

Основным агентом, вызывающим свертывание крови и активацию тромбоцитов, является тромбин. В большинстве случаев ДВС-синдрома активация протромбина осуществляется тканевым фактором, который выделяется из поврежденных тканей и бактерий (внешний путь активации протромбиназы). Реже активация протромбина происходит раковыми прокоагулянтами или коагулазами змей. Избыток тромбина за короткое время активирует такое количество фибриногена, что образовавшийся фибрин-мономер циркулирует в крови как в неизменной форме, так и в виде растворимого фибрина (РФ). Активация свертывания крови и избыток РФ приводит к образованию микросгустков, которые, перекрывая просвет сосудов, приводят к прекращению функции органов – полиорганной недостаточности. Первоначальная гиперкоагуляция по мере истощения факторов свертывания крови и тромбоцитов переходит в гипокоагуляцию с развитием геморрагического синдрома, а избыток РФ и РФМК активирует фибринолиз. Таким образом, ДВС-синдром характеризуется гиперкоагуляцией, переходящей в геморрагический синдром с вторичным системным гиперфибринолизом.

Доказано, что истощение резервов физиологических антикоагулянтов (в первую очередь, протеина С, антитромбина) происходит значительно быстрее, чем плазменных факторов свертывания крови. Открытие данного явления позволило пересмотреть тактику лечения больных с ДВС-синдромом и спасти жизни тысячам пациентов.

Диагноз ДВС-синдрома ставится клинически. Одним из основных проявлений синдрома является развитие полиорганной недостаточности в результате блокады микроциркуляции в органах сгустками крови. К основным органам-мишеням относятся:

1. Легкие: прогрессирующая дыхательная недостаточность (одышка, цианоз, диспноэ, гипоксемия) вплоть до развития дистресс-синдрома.
2. Почки: олигурия, доходящая до анурии, протеинурия, азотемия, почечная недостаточность и уремическая интоксикация.

3. Желудочно-кишечный тракт: образование кровоточащих эрозий и язв, диapedезная кровоточивость, снижение барьерной функции слизистой кишечника для кишечной флоры, проникновение которой в кровь вызывает развитие вторичного эндогенного сепсиса.
4. Печень: гипербилирубинемия, рост активности ферментов. В ряде случаев развивается гепато-ренальный синдром.
5. Нервная система: глубокая депрессия.

Основные причины развития ДВС-синдрома.

1. Попадание в кровоток большого количества тканевого тромбопластина при разрушении тканей.
 - Тяжелые травмы, включая синдром сдавления, травматические хирургические вмешательства.
 - Злокачественные новообразования, в том числе гематологические. Острый промиелоцитарный лейкоз всегда сопровождается ДВС-синдромом.
 - Острые массивные деструкции органов и тканей (панкреатиты, ожоги и др.).
 - Акушерская патология (отслойка плаценты, гибель плода, эмболия околоплодными водами, эклампсия и др.).
2. Нарушение микроциркуляции. Все терминальные состояния и шок.
3. Все острые инфекционно-септические состояния. Ведущую роль играют эндотоксины грам-отрицательных микроорганизмов.
4. Чужеродные поверхности при применении экстракорпоральных методов лечения.
5. Нарушение фагоцитарной функции клеток ЕММС при циррозе печени.
6. Острый внутрисосудистый гемолиз и цитолиз.
7. Отравления гемокоагулирующими змеиными ядами.

Характер течения и фазы ДВС-синдрома.

Характер течения ДВС-синдрома определяется скоростью поступления в кровь активирующих гемостаз субстанций. Различают следующие виды течения:

- Острое, включая катастрофическую форму.
- Подострое с длительным периодом гиперкоагуляции.
- Хроническое с малой скоростью генерации тромбина.

Наличие хронического ДВС признается не всеми авторами. Иногда его называют «лабораторным» ДВС-синдромом, так как выявленные нарушения гемостаза не сопровождаются характерными клиническими проявлениями.

ДВС в своем развитии проходит следующие основные фазы:

1. Гиперкоагуляция и гиперагрегация. При остром ДВС-синдроме фаза очень короткая, ее не всегда удается выявить лабораторно. При заборе кровь может сворачиваться в игле.
2. Гипокоагуляция с коагулопатией потребления.

3. Генерализация фибринолиза (дефибринация). Манифестация гипокоагуляции и дефибринации – отсутствие сгустков крови, вытекающей из матки, кишечника, носа, ран.

4. Восстановление.

Все эти фазы могут перекрываться между собой, а на поздних стадиях развития протекать одновременно. Летальность острых форм на фоне современного лечения составляет 10-15%, без лечения – 50%.

Изменение лабораторных показателей при ДВС-синдроме.

Диагноз ДВС ставится клинически, поэтому лабораторные тесты используют для подтверждения диагноза, объективной оценки эффективности проводимой терапии и состояния различных звеньев гемостаза в соответствующую фазу развития синдрома (табл.6).

Таблица 6.

Лабораторные показатели в разных фазах ДВС-синдрома

Фаза	Лабораторные тесты
Гиперкоагуляция (тромбинемия)	↑ маркеров активации (фибрин-мономер, РФМК, ФПА) ↓ АЧТВ, ТВ, ↓ АТ, протеин С Тромбоцитопения (< 150 000),
Коагулопатия потребления	Высокие маркеры активации ↓ фибриногена и других факторов ↑ АЧТВ, ТВ
Гиперфибринолиз	↓ фибриногена до дефибринации ↑ ПДФ и Д-димеров ↑ АЧТВ, ТВ, протромбинового времени

Примечание: стрелки обозначают ↑- увеличение, ↓ - снижение параметра.

Фаза гиперкоагуляции характеризуется выраженной тромбинемией. Так как измерить содержание тромбина в плазме из-за короткого срока жизни не представляется возможным, уровень тромбинемии определяется косвенным путем

по увеличению содержания маркеров активации свертывания. В крови растет содержание фибрин-мономеров, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), фибринопептида А (ФПА) и некоторых других соединений. В связи с активацией свертывания укорачивается АЧТВ и ТВ и снижается активность антитромбина и протеина С. Определение содержания антикоагулянтов в динамике полезно для индивидуализации прогноза, так как их нарастание в процессе лечения предполагает благоприятный исход. Характерна прогрессирующая, но не доходящая до критического уровня, тромбоцитопения с повышением агрегации тромбоцитов.

В фазе гипокоагуляции на фоне высоких показателей маркеров активации свертывания снижается содержание фибриногена и других факторов. АЧТВ и ТВ удлиняются.

В фазе гиперфибринолиза резко выражено снижение фибриногена вплоть до дефибринации и увеличение фибринолитической активности (ФАК). В связи с активацией фибринолиза растет содержание ПДФ и образующихся только из фибрина Д-димеров. Другие коагуляционные тесты (ПВ, АЧТВ, ТВ), как правило, удлиняются.

При лабораторном мониторинге ДВС-синдрома основное внимание необходимо уделить выявлению тестов, отражающих стабильно прогрессирующие изменения, и на основании этих тестов осуществлять лабораторный контроль проводимой терапии. Эти тесты могут отличаться у различных больных. Они могут включать оценку содержания тромбоцитов, фибриногена, фибринолитической активности, антитромбина, протеина С, РФ и других показателей. Такие коагуляционные тесты, как ПВ, АЧТВ, ТВ имеют разнонаправленные значения в зависимости от фазы заболевания и могут быть мало информативны для динамического наблюдения.

При ДВС-синдроме в крови появляется повышенное количество фрагментированных эритроцитов. Их можно обнаружить в мазке крови и по показателям геманализатора: гистограмме эритроцитов, снижению MCV и росту RDW.

Принципы лечения ДВС-синдрома.

Гиперкоагуляционная фаза: обычный гепарин в/в, свежезамороженная плазма при низком уровне антикоагулянтов, антибиотики, замещение функции жизненно-важных органов.

Гипокоагуляционная фаза: свежезамороженная плазма, иногда концентраты факторов, тромбомасса, антибиотики, замещение функции жизненно-важных органов.

Перед лечением больных, которые находятся в фазе гиперкоагуляции, желательно измерить содержание антитромбина, так как при снижении его уровня гепарин не окажет желаемого эффекта. При лечении, как правило, используется обычный гепарин, поскольку его основное действие антитромбиновое. Антибиотики вводятся всем больным для купирования возможного вторичного сепсиса, вызванного попавшей в кровь кишечной флорой в результате снижения барьерной функции кишечника.

Основные лекарственные препараты для лечения нарушений гемостаза.

У здорового человека все составляющие гемостаза находятся в динамическом равновесии. При различного рода нарушениях гемостаз сдвигается либо в область гиперкоагуляции, либо в область гипокоагуляции. Для восстановления равновесия и предотвращения тяжелых, а порой и опасных для жизни осложнений, используются различные группы фармакологических препаратов.

Принципы лечения кровоточивости.

При геморрагических проявлениях в зависимости от причины геморрагии используют свежезамороженную плазму как источник факторов свертывания плазмы крови, концентраты факторов свертывания, активированные факторы свертывания, концентраты тромбоцитов.

Медикаментозная терапия включает антифибринолитики, иммуносупрессанты, иммуноглобулины, аналоги вазопрессина (десмопрессин), витамин К (викасол), препараты местного действия.

Антифибринолитики (ингибиторы фибринолиза).

При генерализованном или локальном фибринолизе используют препараты, которые ингибируют фибринолиз. К ним относится аминокaproновая кислота, транексамовая кислота, аминобензойная кислота (Памба) и апротинин (торговые названия трасилол, контрикал). Аминокaproновая кислота блокирует действие активаторов пламиногена, угнетает действие пламина, частично блокирует кинины. Транексамовая и аминобензойная кислоты блокируют места связывания с лизином в молекуле пламиногена, предотвращая активацию последнего. Белок апротинин, выделенный из легких крупного рогатого скота, ингибирует энзиматическое действие пламина путем образования с ним комплексов. Кроме пламина апротинин ингибирует трипсин, химотропсин и калликреин.

Медикаментозное лечение гиперкоагуляции.

Из приобретенных нарушений наиболее часто встречается гиперкоагуляция, которая выражается в тромбофилии, тромбозе или тромбоэмболии. Введение практически всех лекарственных препаратов требует лабораторного контроля. Выбор тестов зависит от механизма действия препарата.

Ингибиторы функции тромбоцитов (антиагреганты).

Для снижения уровня тромбофилии с профилактической целью используют антиагреганты. Эти препараты ингибируют адгезию и агрегацию тромбоцитов, препятствуют развитию атеросклеротического процесса. Их применяют в терапии больных со стенозированием и тромбозами артерий, ишемией, инфарктами органов, при наличии тромбофилии.

В настоящее время применяются различные группы препаратов: ингибиторы циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1), ингибиторы фосфодиэстеразы, ингибиторы АДФ-рецепторов тромбоцитов, ингибиторы рецептора Пв/Ша тромбоцитов. В нашей стране наиболее часто используются ингибиторы ЦОГ-1 и ингибиторы АДФ-рецепторов тромбоцитов.

К ингибиторам циклооксигеназы-1 относятся препараты **аспирина**, которые используются в малых дозах (30 – 300 мг/сутки). Механизм действия аспирина связан с необратимым ингибированием ЦОГ-1 тромбоцитов, предотвращая тем самым образование при активации из арахидоновой кислоты прокоагулянта тромбоксана А₂, который повышает адгезию кровяных пластинок. Восстановить уровень фермента тромбоциты не могут, так как не содержат ядра и не способны к синтезу белка. На уровень антиагреганта простаглицина, который образуется из арахидоновой кислоты при участии ЦОГ-1 в эндотелиальных клетках (ЭК), аспирин практически не влияет: содержащее ядро ЭК замещают ЦОГ-1 путем нового синтеза.

Антиагрегантное действие аспирина лабораторно редко контролируется, несмотря на то, что у 1/5 пациентов наблюдается генетически детерминированная или приобретенная резистентность к аспирину. Для контроля антиагрегантной терапии оптимально исследовать агрегатограмму пациента с индукцией агрегации тромбоцитов адреналином до приема аспирина и на 2-3-ий день после начала лечения. Снижение агрегации в 3-4 раза подтверждает эффективность действия аспирина.

Иногда используют мочевой тест для оценки индивидуального ответа на прием аспирина: при достаточной чувствительности к аспирину в моче снижается уровень метаболита арахидоновой кислоты тромбоксана В2.

К побочным действиям аспирина относятся кровотечения и нейтропения (0,17%).

Из ингибиторов АДФ-рецепторов тромбоцитов (тинопиридинов) наиболее широко используется **плавикс** (клопидогрель). Он необратимо ингибирует один из трех известных АДФ-рецепторов тромбоцитов, блокируя их АДФ-зависимую агрегацию. Генетически детерминированная резистентность к плавиксу не выявлена. Показан лабораторный контроль путем оценки агрегатограммы при индукции агрегации добавлением АДФ (снижение показателей агрегатограммы от исходной в 3-4 раза), но возможно применение плавикса без лабораторного контроля.

Побочными действиями плавикса могут быть кровотечения и нейтропения (0,1%).

Антикоагулянты прямого действия.

К антикоагулянтам прямого действия относятся гепарины, гепариноиды и гирудин. Их название обусловлено прямым действием на свертывание плазмы: нейтрализацию тромбина или инактивацию Ха-фактора.

Гепарины являются полимерами серусодержащего дисахарида и относятся к кислым полисахаридам. Они различаются по ОММ и приоритетному механизму действия.

Обычный нефракционированный гепарин (ОГ) представляет смесь гепаринов с ОММ от 1700 до 24000 Д. Он действует двумя основными путями: через каталитическое усиление действия антитромбина (антитромбиновое действие), и через инактивацию фактора Ха (противотромботическое действие). Наиболее выражено *антитромбиновое действие ОГ*. Обычный гепарин широко применяется как для профилактики венозных тромбозов и тромбэмболических осложнений, так и для лечения тромбозов, тромбэмболий, ДВС-синдрома. При лечении ДВС-синдрома использование ОГ предпочтительно, так как он через АТ нейтрализует избыток тромбина. ОГ используют в аппаратах искусственного кровообращения (АИК), при гемодиализе, при гемосорбции и др. Его преимущества заключаются в доступности, простоте мониторинга и возможности полной нейтрализации антикоагулянтного действия введением протаминсульфата - белка из спермы рыб. Обычный гепарин вводят либо подкожно, либо внутривенно.

Резистентность к гепарину встречается редко. В этом случае его заменяют гирудином.

Лабораторный контроль ОГ заключается в определении АЧТВ через 4 часа после введения гепарина. При использовании высоких доз лечебным считается удлинение времени свертывания плазмы в 1,5-2,5 раза по сравнению *со средним значением АЧТВ для данной лаборатории*, а не с исходным значением АЧТВ пациента. При введении низких доз ОГ с целью профилактики удлинение АЧТВ может быть незначительным и лабораторный контроль не является обязательным. В условиях АИК контроль за гепаринотерапией может проводиться по времени свертывания цельной крови. Так как основное антикоагуляционное действие ОГ осуществляется через антитромбин, перед лечением высокими дозами гепарина пациенту рекомендуется измерить уровень антитромбина. При уровне, менее 70%, введение свежезамороженной плазмы или концентрата антитромбина компенсирует недостаток антикоагулянта. Дозы ОГ измеряются в антитромбиновых единицах.

К побочным эффектам высоких доз ОГ относятся кровотечения и гепарининдуцированная тромбоцитопения (ГИТ). Снижение содержания тромбоцитов наблюдается у 10% пациентов, получающих гепарин, что обусловлено способностью гепарина активировать тромбоциты. Однако количество тромбоцитов не бывает ниже $80.000^9/л$. Более выраженное падение уровня кровяных пластинок связано с образованием антител против тромбоцитов и гепарина. При таком осложнении возрастает риск тромбэмболий, так как активированные антителами тромбоциты способны к агрегации. Снижения уровня тромбоцитов наблюдается не ранее, чем через 5-14 дней от начала лечения. В связи с этим при введении высоких доз гепарина рекомендуется контролировать содержание тромбоцитов перед лечением, на 7-е и 12-е сутки, и далее при продолжении лечения 1-2 раза в неделю. В редких случаях в качестве осложнения у пациентов может развиваться гепаринзависимый остеопороз.

Низкомолекулярные гепарины (НМГ) получают путем химической или энзиматической обработки обычного гепарина. Они имеют более низкую ОММ и отличаются механизмом действия. Основным для НМГ является *противотромботическое действие* через инактивацию фактора Ха. НМГ применяются подкожно главным образом для профилактики тромбозов и при терапии венозных тромбэмболических осложнений.

Лабораторный контроль проводится либо по остаточной активности фактора Ха (анти-Ха) перед введением очередной дозы, либо не проводится. Осложнения могут быть те же, что и при введении ОГ, но встречаются крайне редко.

Доза НМГ измеряется в анти-Ха-единицах, которые не соответствуют антитромбиновым единицам ОГ.

Гирудин – это полипептид из слюны медицинской пиявки, который обладает выраженным прямым антитромбиновым действием без участия каких-либо факторов свертывания крови. В медицинских целях используют рекомбинантные препараты гирудина. Гирудин вводят внутривенно для антикоагулянтной терапии пациентов с гепарининдуцированной тромбоцитопенией, и подкожно для профилактики тромбоза в условиях высокого риска. Применение гирудина ограничено из-за опасности кровотечений, так как гирудин не метаболизируется. Он выводится через почки в неизменном виде и при избытке накапливается в тканях. Для гирудина, в отличие от гепарина, нет антидота. При заболеваниях почек дозы корректируются.

Лабораторный контроль терапии гирудином проводится по АЧТВ. Критерии такие же, как для гепарина. Однако в некоторых случаях при увеличении дозы время свертывания плазмы в тесте АЧТВ выходит на плато и более не удлиняется, что свидетельствует об относительной или абсолютной передозировке препарата.

Антикоагулянты непрямого действия (антагонисты витамина К).

Антикоагулянты непрямого действия (АНД) широко используются в лечебной практике, особенно при необходимости длительной антикоагуляционной терапии. Они используются для первичной профилактики при мерцательной аритмии, профилактики рецидивов тромбэмболии, тромботических осложнений при наличии искусственных протезов или фильтра в полой вене.

Преимущества данных препаратов состоят в том, что их можно принимать внутрь, и их действие не зависит от наличия других факторов свертывания крови, например, антитромбина. К группе АНД (оральных антикоагулянтов) относятся антикоагулянты кумаринового ряда (варфарин и др.) и индандионового ряда (фенилин). В последнее время широко используется варфарин как наименее токсичный и наиболее «управляемый».

Варфарин является дериватом кумарина. Его действие, как и других оральных антикоагулянтов, заключается в нарушении реакции γ -карбоксилирования витамин К-зависимых факторов свертывания: II, VII, IX, X, протеинов С и S. Без витамина К образуются неполноценные в процессе плазменного гемостаза PIVKA-факторы, у которых нарушена способность связывания с ионами кальция, фосфолипидами мембран и другими факторами свертывания крови, что и приводит к антикоагулянтному эффекту.

При приеме АНД, в частности, варфарина, меняется как внешний, так и внутренний путь активации протромбиназы. VII фактор участвует во внешнем пути, IX – во внутреннем, а II и X - в обоих путях активации протромбиназы. Тем

не менее, действие АНД больше сказывается на внешнем пути, поэтому прием варфарина контролируют протромбиновым временем (тестом – ПВ, ПТ).

Для правильного использования варфарина требуется постоянный лабораторный контроль. Дозировка препарата не поддается никаким предварительным расчетам. На действие лекарства влияет синтетическая способность печени, пищевой режим, другие лекарственные препараты или сопутствующие заболевания. Желаемый уровень активности факторов устанавливается индивидуально. В настоящее время применяется также низкодозовая терапия АНД. В начальной фазе насыщения назначается индукционная доза варфарина, а лабораторный контроль проводится протромбиновым тестом в процентах по Квику. Далее при подборе дозы контроль осуществляется индексом по Квику каждые 3-4 дня. В качестве дополнительного теста перед началом лечения полезно проводить оценку системы протеина С. При низкой активности протеина С прием варфарина может приводить к тромбозам и некрозам кожи.

В фазе стабильной гипокоагуляции действие препарата оценивают по более объективному показателю Международному Нормализованному Отношению (МНО).

При применении варфарина следует выполнять следующие правила:

1. Применять варфарин в соответствии со сроком годности.
2. При приеме варфарина по возможности ограничивать потребление витамина К. Витамин К содержится в овощах, фруктах, печени, дрожжах.
3. Отодвигать прием варфарина от приема пищи, так как препарат сорбируется пищей.
4. Использовать наиболее низкий режим дозирования, который дает терапевтический эффект (по контролю МНО).

Интервал МНО при лечении варфарином зависит от характера патологии и определяется лечащим врачом. В большинстве случаев он колеблется от 2-х до 4-х.

При длительном лечении варфарином полезно определять АЧТВ как тест на внутренний путь активации протромбиназы. Время свертывания плазмы пациента обычно удлиняется в 2-2,5 раза по сравнению с нормальными значениями АЧТВ лаборатории.

Наиболее опасные осложнения в виде кровотечений встречаются сравнительно редко. При длительном применении возможно повышенное выпадение волос. Препарат противопоказан женщинам в первый триместр беременности.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Основные понятия.

Лабораторные тесты неотделимы от диагностики и мониторинга нарушений гемостаза, особенно при мониторинге антикоагулянтной терапии. Для оценки системы гемостаза используются следующие группы тестов:

1. Свертывание плазмы (коагуляционное звено).
 - Скрининговые тесты.
 - Исследование факторов (активность и концентрация).
 - Маркеры активации свертывания.
 - Ингибиторы свертывания.
2. Фибринолиз.
 - Скрининговые тесты.
 - Факторы фибринолиза (плазминоген, t-РА).
 - Маркеры фибринолиза.
 - Ингибиторы фибринолиза.
3. Исследование тромбоцитов (количество, функции, факторы тромбоцитов).

В лечебных учреждениях общего профиля проводятся, как правило, скрининговые тесты, которые оценивают функцию отдельных фаз процессов свертывания, то есть совместную активность нескольких факторов. Другие тесты обычно выполняются в профильных лабораториях или специализированных лечебных учреждениях, хотя, в принципе, могут проводиться в любой КДЛ, имеющей соответствующее оборудование.

При назначении анализов на гемостаз врач руководствуется наличием клинических признаков, анамнезом, вероятностью оперативного вмешательства, а также возможностями лаборатории. В зависимости от диагностической необходимости пациентам назначается исследование коагулограммы или гемостазиограммы.

Коагулограмма предполагает изучение плазменного звена гемостаза. *Гемостазиограмма* включает одновременную оценку плазменного и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. При рутинных исследованиях минимальный набор тестов для сосудисто-тромбоцитарного звена состоит из определения времени кровотечения и количества тромбоцитов. Более тонкое изучение функции тромбоцитов проводится с помощью специальных методов и приборов.

Пациентам без видимой клинической симптоматики и перед оперативным вмешательством назначается *базовая коагулограмма*. Минимальное количество параметров базовой коагулограммы четыре: протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ) и фибриноген. Эти тесты относятся к скрининговым и позволяют выявить нарушения на всех этапах коагуляции. Данный набор тестов может выполняться как ручными методами, так и на коагулометре. Однако минимального набора тестов недостаточно для пациентов с нарушениями в системе гемостаза. Учитывая трудоемкость и немалую стоимость тестов, в КДЛ должны быть «резервные» тесты, которые выполняются только по назначению лечащего врача дополнительно

к базовой коагулограмме. Эти тесты, как правило, скрининговые, и позволяют оценить функциональную активность других звеньев гемостаза. К ним относятся: фибринолитическая активность (ФАК, скрининговый тест на фибринолиз), оценка активности физиологических антикоагулянтов (антитромбина и общей активности системы протеина С), оценка уровня тромбинемии (РФМК, Д-Димеры и др.), выявление эффектов волчаночного антикоагулянта и некоторые другие. Все эти тесты доступны для выполнения, и для них, кроме Д-димеров, имеются отечественные реагенты. Д-димеры определяется иммунологическими методами и требует специального оборудования. Набор тестов должен соответствовать потребностям лечебного учреждения. Редкие тесты рациональнее проводить в специализированной лаборатории из-за их нерентабельности.

Для общей оценки системы гемостаза проводится тромбозластография (ТЭГ) или тромбозластометрия (ТЭМ). Методы дорогие, но в ряде случаев крайне необходимые.

Таким образом, каждая КДЛ выделяет диапазон исследований, который определяется потребностями лечебного учреждения и возможностями лаборатории.

Основные этапы исследования гемостаза.

При изучении системы гемостаза, как и при других лабораторных исследованиях, анализ складывается из 3-х этапов:

- преаналитического, включающего назначение исследования, оформление бланка-заказа на анализ, забор, хранение и транспортировку биологического материала, иногда первичную обработку биологического материала (центрифугирование и отделение плазмы от эритроцитов);
- аналитического, то есть непосредственного проведения анализа;
- постаналитического, включающего выдачу анализа в отделение, лечащему врачу или пациенту, и интерпретацию результатов лабораторных исследований.

На каждом из этих этапов могут быть допущены ошибки. По статистическим данным 70-80% всех ошибок приходится на преаналитический этап, поэтому все составляющие этого этапа должны быть стандартизированы и неукоснительно выполнены.

Преаналитический этап. Назначение анализов проводится лечащими врачами и включает как стандартную коагулограмму, так и дополнительные тесты. Назначение анализов должно быть обосновано. Обоснованием служат данные анамнеза, данные клинического обследования (наличие геморрагий, признаки венозного застоя или артериальной недостаточности). Также учитывается

информация о приеме лекарственных препаратов, прямо или косвенно влияющих на гемостаз.

При назначении анализов необходимо правильно заполнить направление, что поможет и врачу-клиницисту, и врачу клинической лабораторной диагностики при интерпретации полученных результатов. Тесное сотрудничество врачей-клиницистов с врачом лаборатории по гемостазу помогает и в правильном назначении тестов, и в их расшифровке, тем более, что основную информацию дает не столько конкретный тест, сколько комбинация тестов.

Оформление бланка включает следующие пункты:

- ФИО, пол, возраст
- Отделение или фамилия лечащего врача
- Полный диагноз (диагностика геморрагического или тромботического состояния, контроль терапии антикоагулянтами, тромболитиками, беременность, др.).
- Указание фармакологических препаратов, косвенно влияющих на гемостаз (антибиотики, оральные контрацептивы и др.).

Дата

Подпись врача

На процессы свертывания влияет множество лекарственных препаратов, эффекты которых могут быть как терапевтическими, так и побочными. Фармакотерапия нарушений гемостаза обсуждалась ранее. Побочные эффекты лекарств могут проявляться в виде влияния на тромбоциты или плазменные факторы. *Анальгетики*, как правило, снижают агрегацию тромбоцитов. Прием *оральных контрацептивов* и препаратов заместительной гормонотерапии активизирует агрегацию тромбоцитов и факторов свертывания, снижает уровень антитромбина, что может способствовать тромбофилии. *Антибиотики широкого спектра действия* подавляют кишечную флору и связанный с ней эндогенный синтез витамина К, а также могут вызывать тромбоцитопению. Установлено наличие склонности к гипокоагуляции у пациентов после введения кровозаменителей и при лечении аспарагиназой и вальпроиевой кислотой. Эффекты препаратов необходимо учитывать при интерпретации результатов лабораторных исследований.

Физический и эмоциональный стресс активизирует систему коагуляции и фибринолиза.

Биологическим материалом для исследования гемостаза может быть кровь, плазма и сыворотка крови.

Кровь необходима при регистрации тромбоэластограммы. Сыворотка используется крайне редко для измерения содержания ряда факторов или ПДФ.

Сыворотка – это жидкость, остающаяся после свертывания крови и отделения клеточных элементов. Она не содержит фибриноген и некоторые другие факторы. Основным материалом для исследования системы гемостаза является плазма крови. Для получения плазмы при заборе крови в пробирку добавляется стабилизатор (антикоагулянт), который препятствует свертыванию крови. Плазма – это жидкость, полученная после отделения клеточных элементов без предварительного свертывания крови. Плазма содержит фибриноген и все факторы.

Забор крови на гемостаз проводится из пальца, мочки уха или из вены. Капиллярная кровь берется для некоторых специально адаптированных методов, таких как подсчет тромбоцитов, определение времени кровотечения, АЧТВ, ПВ, и у детей. При заборе капиллярной крови необходим достаточно глубокий прокол стерильным скарификатором и быстрое (10 сек) взятие первых капель крови, полученных самотеком без давления или сжатия. При переносе крови в пробирку с антикоагулянтом (цитратом натрия) она должна быть спущена в центр пробирки, а не растекаться по краям. Кровь с антикоагулянтом должна быть тщательно и аккуратно перемешана.

Стандартным является исследование крови, взятой из вены. Кровь забирают натощак или после легкого завтрака без жирной пищи из локтевой вены силиконизированной иглой с широким просветом в пробирки с цитратом натрия. При взятии крови время наложения жгута должно быть минимальным (не более 2-х мин), так как стаз крови активирует свертывание. Если кровь одновременно берут в несколько пробирок, то пробирка для гемостаза должна быть второй. При заборе крови из катетера для исключения влияния гепарина предварительно спускают до 20 мл крови. Кровь с цитратом натрия сразу 2-3 раза перемешивают без встряхивания и пенообразования, и оставляют при комнатной температуре. В качестве контейнеров для взятия крови могут быть использованы силиконизированные стеклянные пробирки, пластиковые пробирки или вакуумные пробирки с голубой крышечкой, содержащие цитрат натрия. В обычные стеклянные пробирки забор крови недопустим, так как стекло активирует некоторые факторы свертывания крови (контактная активация).

Для тестов, где важно избежать высвобождения тромбоцитарных факторов в период времени между забором крови и выполнением анализа, используют СТАД-пробирки. Эти пробирки содержат цитрат натрия, теофиллин, аденозин и дипиридамол. Последние три составляющих препятствуют агрегации тромбоцитов и высвобождению из тромбоцитов биологически активных веществ.

Для предотвращения свертывания крови после забора для коагулологических исследований в качестве стабилизатора крови используется цитрат натрия (далее цитрат). Цитрат обратимо связывает ионы кальция, чем предотвращает свертывание крови. Цитрат также стабилизирует факторы VIII и V

и дает возможность получить прозрачную плазму после центрифугирования. Соотношение цитрата и крови строго определено – 1:9. По рекомендациям ВОЗ концентрация раствора цитрата составляет 109мМ, что соответствует 3,8% цитрату, приготовленному из трехзамещенного 5,5 водного кристаллогидрата ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7 \times 5,5\text{H}_2\text{O}$), или 3,2% цитрату, приготовленному из трехзамещенного 2-х водного кристаллогидрата ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7 \times 2\text{H}_2\text{O}$). При использовании обычных градуированных пробирок в лаборатории наливают необходимое количество цитрата и отмечают фломастером уровень для крови. В вакуумных пробирках с голубой крышкой содержится стандартное количество цитрата, а уровень для крови уже отмечен.

Таблица 7.

Зависимость соотношения антикоагулянта и крови от гематокрита

<i>Гематокрит</i> %	<i>Антикоагулянт мл</i> <i>(3,8% цитрат натрия)</i>	<i>Общий объем мл</i>
20	1,4	10
22-26	1,3	10
28-32	1,2	10
34-38	1,1	10
40-44	1,0	10
46-50	0,9	10
52-56	0,8	10
58-60	0,7	10
>65	0,5	10
новорожденные	0,25	5,0

Примечание: значения гематокрита, отмеченные жирным шрифтом, допускают использование стандартного количества цитрата.

Высокий и низкий гематокрит требуют коррекции соотношения цитрат-кровь (табл. 7). В этом случае кровь забирают в пластиковые пробирки с

откорректированным количеством цитрата. На практике при гематокрите от 25 до 55% количество цитрата можно не менять.

Наибольшее число ошибок связано с неправильным соотношением цитрата и крови и плохим перемешиванием проб. Очень часто процедурные сестры кровь набирают выше или ниже метки. В этом случае происходит нестандартное разбавление факторов, что может привести к образованию сгустков или нарушению коагуляции в пробирке при ее отсутствии у пациента. *Кровь со сгустками не анализируется!*

Время проведения исследований для оценки функций тромбоцитов и некоторых других тестов (РАI-1) составляет 30-40 мин. Такие пробы должны быть взяты в том лечебном учреждении, где они анализируются. При оценке плазменного гемостаза пробы должны анализироваться в течение 4-х часов. Использование вакуумных пробирок продлевает время проведения анализа, образцы крови могут транспортироваться в профильную лабораторию. Пробы до исследования хранятся при комнатной температуре.

Предварительный этап обработки проб включает центрифугирование. Путем изменения режима центрифугирования получают плазму, содержащую различное количество тромбоцитов. *Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП)* получают центрифугированием крови в течение 5 мин при 1000 оборотов/мин. ОТП используют для подсчета количества и оценки функции тромбоцитов. *Бедную тромбоцитами плазму (БТП)* получают путем центрифугирования цитратной крови при 3000 оборотов/мин в течение 15 мин. Ее используют для исследования показателей плазменного гемостаза. *Бестромбоцитная плазма* получается при центрифугировании цитратной крови в течение 30 мин при 4000 об/мин. Центрифугирование при исследовании гемостаза лучше проводить в центрифугах с бакет-ротором. При взятии пробирок из такой центрифуги фазы не смешиваются. Медленная остановка центрифуги также препятствует смешиванию фаз.

При необходимости плазму можно однократно заморозить (-20⁰ - -70⁰С). Для замораживания рекомендуется использовать бестромбоцитную плазму. При высокой температуре замораживания (-20⁰С) плазма должна анализироваться в течение 2-х недель. Размораживание плазмы проводится на водяной бане при 37⁰С. Размороженная плазма сразу анализируется. В плазме, содержащей гепарин и ПДФ, показатели гемостаза после замораживания меняются.

Гемолизированная плазма не анализируется за исключением случаев внутрисосудистого гемолиза у пациента.

Аналитический этап включает непосредственное проведение анализа. Результат анализа зависит от метода исследования, качества реактивов, используемого оборудования и человеческого фактора. Снижение влияния человеческого фактора обеспечивает автоматизация аналитического процесса.

Для исследования гемостаза применяются следующие группы методов:

1. Клоттинговые, основанные на регистрации времени образования сгустка (clot – сгусток, тромб). Используются для выполнения скрининговых тестов, определения активности отдельных факторов свертывания и ингибиторов.
2. Хромогенные, основанные на фотометрическом определении активности факторов по расщеплению хромогенных или флуорогенных субстратов. Используются для выполнения скрининговых тестов, определения активности отдельных факторов свертывания и ингибиторов. Методы чувствительны и специфичны, легко адаптируются к биохимическим анализаторам. С их помощью можно достаточно надежно измерить содержание того или иного фактора, но не всегда возможно оценить его биологическую активность.
3. Иммунологические, основанные на реакции антиген-антитело (ИФА, латексная агглютинация, нефелометрия, турбидиметрия и др.). Используются для определения концентрации факторов.
4. Другие методы для специальных исследований (например, растворение сгустка, молекулярные методы и др.).

При выборе методов необходимо помнить, что понятия активности и концентрации факторов не всегда тождественны. Так, при лечении варфарином концентрация витамин-К-зависимых факторов, измеренная методом ИФА, может быть в пределах нормы, в то время как их активность в клоттинговых тестах будет снижена (удлинение ПВ и АЧТВ) из-за синтеза функционально неполноценных PIVKA-факторов.

Для калибровки исследования активности и большинства концентраций факторов используется пул цитратных плазм.

Нормальная плазма – это пул бестромбоцитных цитратных плазм, полученный не менее чем от 20 клинически здоровых доноров. В этой плазме активность всех факторов считается по определению как 100% или 1 ед/мл. Нормальная плазма и ее серийные разведения используются для многоточечной калибровки.

Референтная плазма (100% значения) – централизованно приготовленная в соответствии со стандартом нормальная плазма.

Калибровочная плазма – пул цитратных плазм, в котором активность или концентрация компонентов гемостаза точно определены, но могут отличаться от 100%. Калибровочная плазма и ее серийные разведения используются для многоточечной калибровки с учетом активности или концентрации, определенной производителем.

Коагулологические методы исследования плохо поддаются стандартизации. Показатели тестов зависят от качества и состава реактивов и используемого оборудования. Некоторые успехи достигнуты в стандартизации ПВ при использовании МИЧ и расчете МНО в контроле лечения АНД. Во избежание ошибок желательно пользоваться готовыми наборами реактивов, которые

поставляют отечественные и зарубежные фирмы. Среди отечественных производителей тест-систем наиболее популярны реактивы фирм «Ренам» (Москва), «Технология-Стандарт» (Барнаул), «МедиоЛаб», (Москва). Рекомендуется использовать наборы одного и того же производителя и отрабатывать референтные значения показателей в условиях своей лаборатории. Для уверенности в правильности проводимых исследований и получении достоверных результатов каждой лаборатории необходимо ежедневно проводить внутрилабораторный контроль качества и участвовать во внешнем контроле качества, отечественном или международном. В связи с недостаточной стандартизацией тестов при внешней оценке качества, например ФСВОК, для большинства тестов учитываются не абсолютные значения времени свертывания плазмы, а степень удлинения или укорочения времени свертывания контрольной плазмы по сравнению с донорской плазмой, измеренных в условиях данной лаборатории.

Все клоттинговые тесты проводятся в силиконированной или пластиковой посуде. Тесты проводятся ручными методами на водяной бане с прозрачными стенками или на полуавтоматических и автоматических анализаторах гемостаза - коагулометрах. Ручные методы допускаются, но воспроизводимость и точность определения у них самая низкая. Это связано с невозможностью стандартизации процесса проведения анализа, осуществляемого разными операторами, а также со сложностью визуальной регистрации времени появления сгустка. Клоттинговые тесты ставятся в дублях. Расхождение времени образования сгустка в параллельных исследованиях должно быть менее 0,5 сек.

Более современным и распространенным является измерение параметров гемостаза с помощью коагулометров. В полуавтоматических коагулометрах автоматизирована только система регистрации. По системе регистрации образования сгустка различают оптические, оптико-механические, механические и турбидиметрические коагулометры. Оптические и оптико-механические приборы могут анализировать только плазму. Эти приборы имеют так называемый автоматический старт: добавление реактива в измеряемую кювету автоматически запускает регистрацию времени образования сгустка. При использовании нескольких реактивов в кювету, поставленную в ячейку для измерения, должен добавляться только последний (стартовый) реактив. В механических коагулометрах может анализироваться и плазма, и цельная кровь. Эти приборы не имеют автоматического старта, отсчет времени запускается механическим нажатием кнопки. Механические коагулометры особенно удобны для поликлиник при мониторинге пациентов, принимающих варфарин, по протромбину капиллярной крови. Автоматические коагулометры проводят всю процедуру анализа в соответствии с заданной программой. Некоторые коагулометры рассчитывают фибриноген по протромбину. Такая методика может быть

использована при массовых скрининговых обследованиях, но малоприспособлена для обследования пациентов с патологией гемостаза.

Постаналитический этап включает заполнение бланка анализа, выдачу анализов из лаборатории и помощь лечащему врачу в интерпретации результатов. Некоторые лаборатории пишут заключение по коагулограмме. Ошибки постаналитического этапа чаще всего связаны с неправильным вписыванием в бланк результатов анализа. Использование современных технологий (автоматизация, компьютеризация, установка лабораторных информационных систем – ЛИС) резко снижает процент ошибок.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОСТАЗА

Методы оценки общей коагуляции.

Для оценки общего комплексного состояния гемостаза существуют методы графической регистрации процессов коагуляции: тромбоэластография (ТЭГ) и тромбоэластометрия (ТЭМ). ТЭМ отличается от ТЭГ использованием компьютерного анализа и активаторов свертывания крови.

Таблица 8.

Основные стандартные параметры ТЭГ и ТЭМ

Параметр	Аббревиатура	Содержание
Время начала коагуляции сек	CT (r)	Время от начала анализа до размаха (амплитуды) 2 мм Отражает время образования тромбина
Время формирования сгустка сек	CFT (k)	Время от амплитуды 2 мм до 20мм Кинетика образования стойкого сгустка из тромбоцитов и фибрина
Угол α (°)	Alpha	Касательная к кривой в точке 2 мм Скорость формирования сгустка
Максимальная амплитуда мм	MCF (MA)	Механические свойства сгустка на максимуме свертывания

Принцип метода основан на вовлечении в колебательное движение подвижных кюветы или штифта полимеризованным фибрином. В зависимости от количества фибрина, степени его полимеризации, активности тромбоцитов, наличия гиперфибринолиза на термобумаге или в компьютере изображается характерная кривая в координатах амплитуда - время. Ручная или компьютерная обработка кривой позволяет вычислить ряд необходимых параметров. Основные стандартные параметры указаны в таблице 8. Графическое изображение ТЭМ здорового человека представлено на рисунке 5.

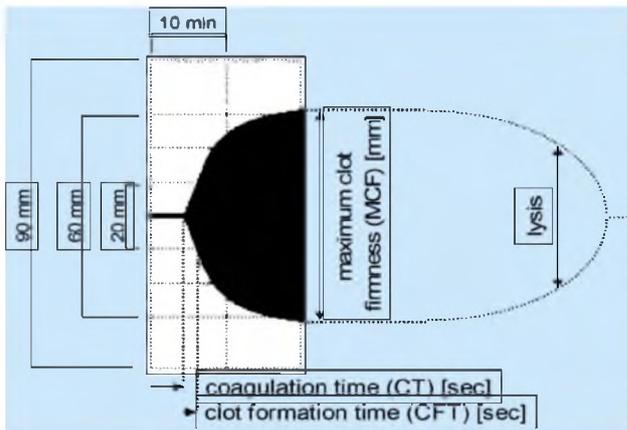


Рис 5. Изображение и параметры ТЭМ.

Графическое изображение процесса наглядно отражает состояние гемостаза (рис.6). Оно содержит информацию о текущем состоянии всех основных звеньев. Метод позволяет качественно и полуколичественно охарактеризовать процесс образования сгустка, его механические характеристики, плотность, стабильность и процесс фибринолиза. Анализ наиболее полезен в тех случаях, когда врачу необходимо быстро принять правильное решение относительно функционального состояния системы гемостаза пациента (гематология, акушерство и гинекология, онкология, травматология, ожоговые отделения, обследование новорожденных, трансплантология, сердечно-сосудистая хирургия, кардиология).

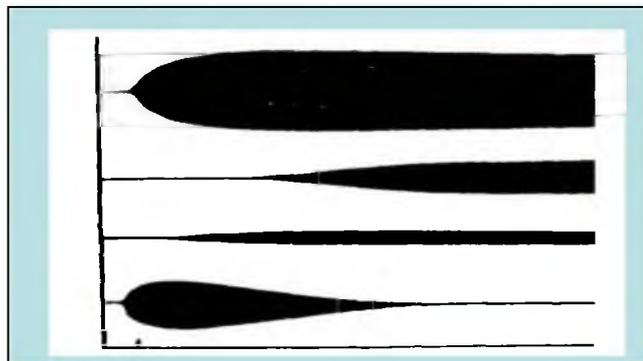


Рис. 6. Различные варианты ТЭМ. Сверху вниз: норма, гемофилия, тромбоцитопения, гиперфибринолиз.

Оценка сосудисто-тромбоцитарного звена.

1. Пробы на длительность и величину капиллярного кровотечения из поверхностных микрососудов после нарушения их целостности. Включает пробу Дьюка и другие методы, например, чувствительную пробу (Айви) на фоне искусственно созданного веностаза при давлении 40 мм рт.ст. Референтные значения до 4-х минут (новорожденные 1-3 мин.).

Время кровотечения характеризует функциональную активность тромбоцитов и капилляров и не зависит от процессов свертывания плазмы. Время свертывания удлинено при нарушении адгезии и агрегации тромбоцитов, при

некоторых типах болезни Виллебранда, выраженной тромбоцитопении, токсическом повреждении капилляров. Однако нормальные результаты проб не исключают дефектов тромбоцитов (проба Дьюка у 2/3 больных с тромбоцитопатиями показывает нормальные результаты). У больных гемофилией время кровотечения находится в пределах допустимых значений. Проба имеет значение в предоперационном скрининге и у детей.

2. Подсчет количества тромбоцитов проводят у пациентов при первичном обследовании, перед операцией, при геморрагических и тромбофилических состояниях, при мониторинге тромбоцитопенического состояния или тромбоцитоза.

Референтные значения составляют 150-380 тыс/мл. При функционально полноценных тромбоцитах явления кровоточивости наблюдаются при снижении уровня тромбоцитов до 50 тыс/мл и менее. Тромбоцитозом считают повышение содержания тромбоцитов более 600 тыс/мл.

Тромбоцитопении в большинстве случаев обусловлены аутоиммунной или гетероиммунной патологией, а также приемом лекарственных препаратов, в частности гепарина. Тромбоцитопения также может быть связана с повышенным депонированием тромбоцитов в селезенке при портальной гипертензии, хроническом миелолейкозе и других видах спленомегалии, при вирусных и бактериальных инфекциях, при миелофтизе, некоторых видах анемий, повышенном потреблении тромбоцитов при ДВС-синдроме и некоторых других состояниях.

Различают первичный тромбоцитоз, связанный с дефектом стволовых клеток, и реактивный тромбоцитоз. Он наблюдается при миелопролиферативных расстройствах, злокачественных заболеваниях, некоторых анемиях, воспалительных процессах, после спленэктомии и др.

Подсчет тромбоцитов проводят несколькими методами:

1). Непосредственный подсчет в крови.

- С помощью счетной камеры в фазово-контрастном микроскопе из обогащенной тромбоцитами плазмы (референтный метод). Ошибка метода составляет от 10%.
- С помощью автоматического счетчика. Ошибка метода минимальная при отсутствии агрегатов тромбоцитов. Наиболее точный подсчет в интервале от 60 до 600 тыс/мл.

2) Подсчет в мазках крови по Фонию. Ошибка метода составляет до 25%.

Таким образом, в большинстве случаев наиболее точный подсчет тромбоцитов обеспечивает гематологический анализатор, который определяет следующие тромбоцитарные параметры: количество тромбоцитов (Platelets, PL,

PLT), средний объем тромбоцита (MPV), дисперсию распределения тромбоцитов по объему (PDW) и рисует гистограммы тромбоцитов, то есть графики распределения тромбоцитов по объему. В случае отклонения показателей тромбоцитов от референтного интервала или при наличии аномальных гистограмм тромбоцитов или эритроцитов необходимо исследовать мазок периферической крови и посчитать тромбоциты в мазке крови по Фонию.

Наиболее частая причина, приводящая к ошибкам подсчета тромбоцитов в гематологическом анализаторе – агрегация тромбоцитов, которая проявляется ложной тромбоцитопенией - псевдотромбоцитопенией. Псевдотромбоцитопения может быть связана с индуцированной ЭДТА-агглютинацией (ЭДТА-индуцированная псевдотромбоцитопения) или слипанием тромбоцитов с нейтрофилами под влиянием тромбоцитарных агглютининов (рис 7).

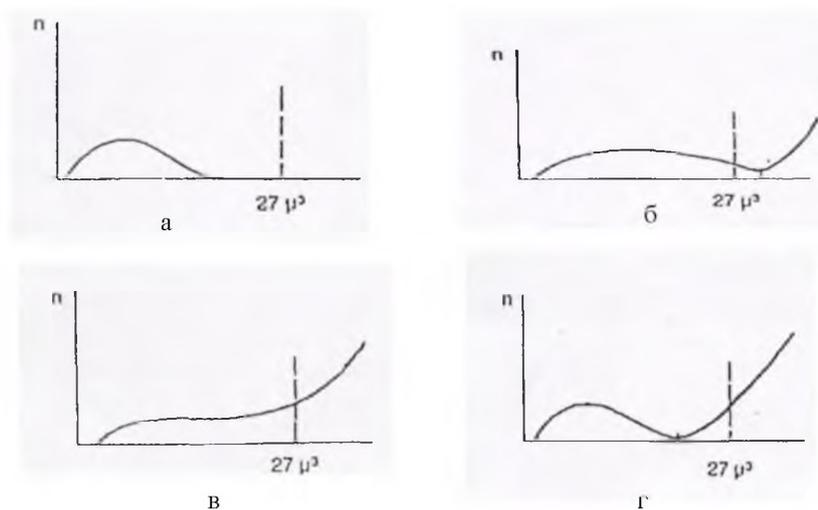


Рис. 7. Гистограммы тромбоцитов: а – норма; б, в – гигантские тромбоциты или их агрегаты (на гистограмме отсутствует нормальный пик распределения, график смещается вправо и меняет свою форму); г – гистограмма тромбоцитов при наличии микроцитов

ЭДТА-индуцированная псевдотромбоцитопения встречается у 0,1-1% пациентов при использовании в качестве антикоагулянта ЭДТА. Она обусловлена наличием антител, которые в присутствии ЭДТА связываются с мембранами тромбоцитов, вызывают агглютинацию тромбоцитов *in vitro* и уменьшение количества кровяных пластинок при подсчете. При ЭДТА-индуцированной тромбоцитопении рекомендуется подсчет тромбоцитов в пробе крови проводить с цитратом или гепарином сразу после взятия крови.

Псевдотромбоцитоз может быть обусловлен дополнительным подсчетом эритроцитов при микроцитозе или наличии фрагментированных эритроцитов.

При анализе мазка крови необходимо обращать внимание на морфологию тромбоцитов. Визуально под микроскопом виден и размер тромбоцитов, и наличие агрегатов, и некоторые морфологические изменения. При тромбоцитопатии, связанной с нарушением формирования белковых гранул, тромбоциты не прокрашиваются, выглядят серыми (синдром «серых» тромбоцитов).

Оценка функционального состояния тромбоцитов.

Оценка функции тромбоцитов проводится при изучении их агрегации с использованием различных индукторов агрегации. Предлагавшиеся ранее фактически качественные методы с оценкой агрегации на предметном стекле, в пробирке или с помощью ФЭКа в настоящее время являются устаревшими. Функции тромбоцитов оцениваются с помощью специальных приборов – агрегометров.

Принцип работы большинства агрегометров основан на снижении светопоглощения богатой тромбоцитами плазмы при образовании агрегатов тромбоцитов. Агрегация провоцируется добавлением различных индукторов агрегации или оценивается без их добавления (спонтанная агрегация).

Использование агрегометров необходимо в следующих ситуациях:

1. При выявлении наследственных или приобретенных тромбоцитопатий и тромбоцитопений.
2. При диагностике болезни Виллебранда.
3. При комплексном исследовании системы гемостаза у пациентов с нарушениями свертывания крови.
4. При лечении антиагрегантами, особенно аспирином, так как у 10-38% пациентов либо существует врожденная, либо формируется приобретенная толерантность к действию препарата.

В качестве индукторов агрегации используют АДФ, адреналин, тромбин, коллаген, ристоцетин, арахидоновую кислоту и некоторые другие агенты.

Дифференциальная диагностика патологии тромбоцитов обычно проводится в специализированных лечебных учреждениях. В поликлиниках и многопрофильных больницах агрегатограмма актуальна при комплексном исследовании системы гемостаза и мониторинге лечения антиагрегантами.

При лечении препаратами аспирина исходная агрегатограмма спонтанной (без индуктора) или индуцированной адреналином агрегации тромбоцитов сравнивается с агрегатограммой, полученной через 3-4 дня лечения аспирином. Снижение агрегации в 3-4 раза свидетельствует о наличии эффекта аспирина и об адекватности дозы. Отсутствие снижения агрегации связано с толерантностью к аспирину и предполагает замену антиагреганта.

При использовании плавикса оценка АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов полезна для корректировки дозы. Снижение агрегации с АДФ на 3-4 день в 3-4 раза свидетельствует о наличии эффекта и об адекватности дозы.

Для анализа агрегации тромбоцитов используется свежая обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП). Хранение проб крови не должно превышать 45 мин.

Тесты скрининговой коагулограммы.

К тестам скрининговой коагулограммы относятся протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ) и фибриноген. ПВ выявляет нарушения внешнего пути свертывания, АЧТВ – внутреннего пути свертывания, ТВ – конечного этапа свертывания, то есть образования фибрина из фибриногена. При проведении тестов время свертывания плазмы пациента сравнивается со временем свертывания плазмы здоровых доноров. Укорочение времени свертывания указывает на гиперкоагуляцию, удлинение – на гипокоагуляцию. Удлинение времени свертывания во всех трех тестах одновременно встречается при гепаринотерапии, присутствии в пробе продуктов деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) или патологических ингибиторов. Эти тесты являются базисными, так как позволяют решить, какой уточняющий тест необходимо выполнить.

Протромбиновое время (ПВ).

ПВ (ПТ) является тестом на внешний (быстрый) механизм гемокоагуляции. В свертывании крови по внешнему пути участвует тканевой фактор (ТФ), он же тканевой тромбопластин, который запускает реакцию свертывания плазмы, витамин К- и одновременно Ca^{++} -зависимые факторы VII, X и II (протромбин), фактор V и фактор I (фибриноген). В физиологических условиях ТФ попадает в кровь из поврежденных или разрушенных клеток, в том числе лейкоцитов, макрофагов, клеток опухолей и тканей, и активирует процесс свертывания крови.

Основные области применения: как скрининговый тест исследования свертывающей системы крови, контроль гемостаза при лечении антикоагулянтами непрямого действия (АНД), оценка синтеза в печени факторов протромбинового комплекса.

Принцип метода состоит в определении времени свертывания бедной тромбоцитами цитратной плазмы после добавления тканевого фактора и Ca^{++} . В качестве тканевого фактора используется тканевой тромбопластин. Тканевые тромбопластины – это водные экстракты липопротеинов тканей млекопитающих, богатые тканевым фактором. Фосфолипиды входят в состав тканевого

тромбопластина. Реактивы отличаются активностью, чувствительностью и растворимостью. Для получения воспроизводимых результатов предпочтительно пользоваться готовыми наборами реактивов. ПВ является фосфолипидзависимым тестом.

ПВ может выражаться несколькими способами:

1. Время свертывания в сек.
2. Протромбиновый индекс (ПИ, ПТИ)
Время свертывания нормальной плазмы

$$\text{ПТИ} = \text{-----} \times 100\%$$

Время свертывания плазмы пациента

3. Протромбиновое отношение (ПО)

Время свертывания плазмы пациента

$$\text{ПТИ} = \text{-----}$$

Время свертывания нормальной плазмы

4. Протромбин по Квику в %. Определяется по калибровочному графику.
5. МНО (Международное Нормализованное Отношение), которое представляет ПО, возведенное в степень Международного Индекса Чувствительности (МИЧ).

$$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$$

Время свертывания в сек, ПТИ и ПО – качественные показатели. Время свертывания в сек не определяют из-за низкой воспроизводимости результатов при смене реагентов, ПО используется как промежуточный показатель при определении МНО, а ПТИ имеет низкую информативность и определяется только в России и странах ближнего зарубежья. Ограничения в использовании ПТИ связаны с зависимостью параметра от исходной активности и чувствительности тканевого тромбопластина. Значения показателя одного и того же больного, измеренные в разных лабораториях, могут существенно отличаться. Референтные пределы 80-110%.

Все попытки полной замены определения ПТИ на протромбин в процентах по Квику в России не увенчались успехом. Это связано с объективными обстоятельствами. Во-первых, ряд лабораторий до сих пор приобретает не аттестованный тромбопластин. Во-вторых, многие лаборатории не имеют программируемых коагулометров. Проведение исследований на водяной бане повышает вероятность субъективных ошибок.

В настоящее время принято выражать ПВ в % по Квику. Несмотря на то, что время свертывания зависит от используемого тромбопластина, типа добавок в реагент, метода детекции (мануальная, автоматическая), типа образцов и калибровочного материала, это количественный метод, конечные результаты которого получают в соответствии с калибровочным графиком. Для построения графика готовят несколько концентраций протромбина донорской плазмы: без разведения (100%) и с разведением физраствором в несколько раз, например, в 2 (50%) и 4раза (25%). Допускаются и другие разведения, например, 75%. Если процент протромбина, указанный в паспорте плазмы-калибратора, отличается от 100, то расчет процента проводят, исходя из реальных цифр. Например, если исходное содержание протромбина по паспорту контрольной плазмы 96%, то следующие разведения составят 48% и 24% соответственно. После анализа калибровочных проб строится график в обратной системе координат, и процент протромбина определяется по графику. При ручной калибровке результаты ограничены 100% активностью и могут быть определены только по калибровочному графику, что для среднего медперсонала представляет сложность. Таким образом, лаборатории без должного оборудования обречены на ПТИ.

Коагулометры, как правило, имеют программу, которая после проведения калибровки результаты в сек переводит в % по Квику, поэтому ручное построение графика не требуется. Референтные пределы 70-130%.

ПТИ % не соответствует процентам по Квику.

Клиническая интерпретация.

Снижение активности (гипокоагуляция) - удлинение ПВ, снижение ПТИ и протромбина по Квику в %, наблюдается при недостатке факторов свертывания крови из-за естественного или индуцированного лекарствами снижения синтеза или ингибирования факторов.

1. Наследственный или приобретенный дефицит факторов, задействованных во внешнем пути активации протромбиназы (VII, X, V, II, I).
2. Дефицит витамина К (II, VII и X факторы образуются в гепатоцитах в присутствии витамина К).
3. Прием лекарственных средств - антагонистов витамина К, АНД (варфарина, фенилина) и усиливающих их действие препаратов: анаболических стероидов, клофибрата, глюкоагона, тироксина, индометацина, неомицина, оксифенбутазона, салицилатов; гепарина, урокиназы.
4. ДВС-синдром.
5. Присутствие в пробе первичных и вторичных антикоагулянтов (гепарин, ПДФ).
6. Присутствие патологических ингибиторов свертывания.
7. Заболевания печени со снижением синтетической функции.

Повышение активности (гиперкоагуляция) - укорочение ПВ, рост ПТИ и протромбина по Квику в %, отражает массивное поступление тканевого фактора в

кровоток (травма, некроз), активацию свертывания во время беременности или после родов, недостаток физиологических антикоагулянтов.

АНД, будучи антагонистами витамина К, влияют как на внешний, так и на внутренний путь активации протромбиназы. Однако эффект больше выражен на внешнем каскаде, и ПВ меняется больше, чем АЧТВ. При лечении АНД в начале терапии из-за большого количества флуктуаций используется ПВ, а при стабилизации лечения – МНО.

МНО – расчетный показатель, принятый ВОЗ в 1983г. для контроля лечения антикоагулянтами непрямого действия. Международный Индекс Чувствительности (МИЧ, International Normal Ratio - INR) необходим для приведения данных ПО, определяемых с различными тромбопластинами, к величине, которая была бы определена первичным стандартом тромбопластина (эталоном). Производители реактивов определяют чувствительность каждой серии тромбопластин, сравнивая ее с эталоном, и указывают значение МИЧ в паспорте к набору. Оптимально работать с тромбопластинами, имеющими МИЧ, близкий к 1 (0,96-1,5).

При наличии гипокоагуляции МНО повышается. Использование МНО позволяет оценить степень гипокоагуляции независимо от используемого тромбопластина. В результате появляется возможность сравнивать данные, полученные в разных лабораториях. Определение МНО возможно только при использовании аттестованного по МИЧ тромбопластина. Допускается проведение анализа ручными методами. Оптимальные пределы МНО, которые должны быть достигнуты в ходе лечения антикоагулянтами непрямого действия, зависят от терапевтических целей и определяются лечащим врачом. Обычно для профилактики гиперкоагуляции МНО поддерживается в пределах 2-2,5. Высокое МНО (4,5) иногда используется в лечебных целях, но чревато возможностью возникновения кровотечения.

МНО не используется:

1. Для скрининговых исследований.
2. В начале терапии АНД.
3. При оценке функции печени.

Активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ).

Термин частичное (парциальное) обусловлен использованием в составе реактивов фосфолипидов, а не тканевого фактора. АЧТВ относится к фосфолипидзависимым тестам. Он предназначен для оценки внутреннего механизма образования протромбиназы. Во внутреннем каскаде участвуют ВМК,

ПК, XII, XI, IX, VIII, X, V, II и I факторы, из них IX, X и II – витамин К- и Ca^{++} -зависимые.

Основные области применения: как скрининговый тест, контроль за лечением гепарином, первичное выявление волчаночного антикоагулянта (ВА).

Принцип метода состоит в определении времени свертывания БТП при запуске его по внутреннему механизму после добавления кальция в условиях стандартизации контактной и фосфолипидной фаз коагуляции. Контактная фаза может быть активирована веществами неорганического (каолином, сульфатидами) и органического (эллаговой кислотой) происхождения.

На результаты исследования значительно влияет состав фосфолипидов, которые являются заменителем 3-его фактора тромбоцитов (P_3). Они могут быть представлены фосфолипидами мембран тромбоцитов, фосфолипидами синтетического происхождения или выделенными из тканей животных и человека, фосфолипидами растительного происхождения (из сои), смесью животных и растительных фосфолипидов, фосфолипидами из мембран эритроцитов человека (эрилид, эритрофосфатид). В зависимости от того, выявление каких нарушений приоритетно для данной лаборатории, выбираются соответствующие наборы реагентов. Так, сочетание эллаговой кислоты и соевых фосфолипидов чувствительно к дефициту факторов и присутствию гепарина, а каолина и эрилида – как к дефициту факторов, гепарину, так и к волчаночному антикоагулянту.

Метод плохо стандартизируется, результаты зависят от прибора и используемых реагентов, поэтому свойства реактивов должны быть известными. Желательно пользоваться реактивами одного производителя. В ряде случаев полезно рассчитывать отношение АЧТВ больного/АЧТВ донора (нормальной контрольной плазмы).

При проведении теста на АЧТВ воспроизводимость результатов зависит от соблюдения времени преинкубации плазмы с фосфолипидами и активатором контактной фазы перед добавлением CaCl_2 . Время преинкубации, указанное в методике анализа, должно неукоснительно соблюдаться.

Клиническая интерпретация.

Удлинение АЧТВ (гипокоагуляция):

1. Дефицит факторов внутреннего пути.
2. Наличие гемофилии (врожденный дефицит факторов VIII и IX вызывает соответственно гемофилию А и В).
3. Дефицит витамина К или лечение АНД (витамин-К-зависимые факторы II, IX и X участвуют во внутреннем пути).
4. Лечение гепарином и другими антикоагулянтами прямого действия.
5. ДВС-синдром в фазу гипокоагуляции.

6. Заболевания печени со снижением синтетической функции.
7. Присутствие в пробе вторичных антикоагулянтов (ПДФ и др.).
8. Присутствие патологических ингибиторов свертывания.
9. Наличие волчаночного антикоагулянта (ВА).

Гепаринотерапия и введение гепарина в тестируемую плазму ведет к дозозависимому удлинению АЧТВ. При введении терапевтических доз ОГ время свертывания в тесте АЧТВ должно удлиниться в 1,5-2,5 раза по сравнению со средним по серии, а не с АЧТВ пациента. При длительном лечении гепарином, а также после фибринолитической терапии может развиться резистентность (устойчивость) к гепарину. Она проявляется в укорочении времени АЧТВ на фоне неизменной дозы гепарина. Данный факт свидетельствует о неэффективности лечения и возрастанию риска тромбоза. Устойчивость к гепарину чаще всего связана с недостатком антитромбина, поэтому пациентам на гепаринотерапии рекомендуется определять антитромбин. Другими причинами может быть высвобождение тромбоцитами гепарин-нейтрализующих веществ или увеличение их уровня в острой фазе воспаления. Введение НМГ в настоящее время принято контролировать остаточной активностью фактора Ха, хотя АЧТВ удлинится аналогично введению ОГ.

При лечении АНД АЧТВ рекомендуется измерять в начале лечения, а также при длительном приеме препаратов. Время свертывания, как правило, удлинится в 2-2,5 раза по отношению к норме. При приеме оральных антикоагулянтов между цифрами АЧТВ и ПВ корреляции не выявлено.

Влияние патологических ингибиторов и волчаночных антикоагулянтов (ВА) более подробно будет рассмотрено в тесте на ВА.

Укорочение АЧТВ (гиперкоагуляция) свидетельствует о тромбофилии. Причиной может быть резистентность фактора V к протеину С, повышение уровня фактора VIII, активация факторов, физиологическое повышение свертывания крови при беременности.

Часто укорочение АЧТВ связано с нарушением работы с кровью на преаналитическом этапе.

Тромбиновое время

Тромбиновое время (ТВ) характеризует конечный этап процесса свертывания плазмы: превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина. Тест является скрининговым на полимеризацию фибриногена/фибрина и на антикоагулянтную активность плазмы.

Принцип метода заключается в определении времени свертывания БТП при добавлении к ней стандартной концентрации тромбина. Так как тромбин

непосредственно активирует фибриноген, тест не нуждается в добавлении кальция или каких-либо дополнительных реагентов. При проведении теста используется тромбин низкой или средней концентрации. Тромбин низкой концентрации вызывает образование сгустка в течение 15-20 сек. (референтные значения указаны в методике анализа). Он используется для скрининговых исследований. При работе с плазмой, содержащей гепарин, рекомендуется более высокая концентрация тромбина, так как комплекс антитромбин-гепарин, который образуется при введении гепарина, быстро нейтрализует добавленный тромбин. Тест очень чувствителен к гепарину. Сразу после внутривенного введения гепарина и в терминальной фазе ДВС-синдрома в тромбиновом тесте кровь не сворачивается. ТВ удлиняется при заборе крови через катетер, обработанный гепарином.

Для правильной интерпретации результатов теста к пробе крови, содержащей гепарин, допускается добавить протаминасульфат для нейтрализации гепарина или измерить рептилазное время. Рептилаза или батроксобин – это коагулаза из яда змеи щитомордника. Она действует аналогично тромбину, но не подвержена влиянию гепарина.

Удлинение ТВ (гипокоагуляция):

1. Снижение концентрации фибриногена до 1-0,5 г/л.
2. Качественное изменение молекулы фибриногена (дисфибриногенемия).
3. Введение антикоагулянтов прямого действия (гепарина).
4. Высокое содержание ПДФ при повышенном фибринолизе, лечении фибринолитиками, ДВС-синдроме.
5. Наличие патологических ингибиторов.

Ингибиторы, удлиняющие ТВ, делятся на ингибиторы полимеризации, которых большинство, и ингибиторы тромбина. Ингибиторы полимеризации – это аномальные иммуноглобулины, которые нарушают процесс полимеризации фибриногена. Все ингибиторы ассоциированы с основным заболеванием, например, множественной миеломой, и представлены парапротеинами или криоглобулинами. При наличии ингибиторов тромбина время свертывания в рептилазном тесте остается нормальным.

В ряде случаев удлинение ТВ наблюдается при уремии и при наличии ВА.

Определение ТВ полезно при проведении фибринолитической и гепаринотерапии.

Укорочение ТВ свидетельствует о гиперкоагуляции и риске тромбозов.

Фибриноген.

Фибриноген – это белок плазмы крови, который синтезируется в печени. Содержание фибриногена практически не зависит от пола и возраста. Хотя сам по

себе он не активирует гемостаз, эпидемиологические исследования показали, что фибриноген является независимым фактором риска инфаркта миокарда и ишемического инсульта. Рост содержания фибриногена увеличивает тенденцию к тромбообразованию, усиливает агрегацию тромбоцитов, ухудшает реологические свойства крови, способствует атеросклерозу и повышает риск развития тромбозов. Однако пределы для терапевтического вмешательства пока не определены.

Фибриноген является белком острой фазы воспаления. При тяжелых бактериальных инфекциях, травме, тромбозе он может повышаться до 10г/л и более. Рост содержания фибриногена коррелирует с повышением СОЭ.

Референтные пределы 2-4 г/л.

Основные методы определения.

1. Клоттинговый метод по Клаусу является наиболее адекватным и распространенным методом и относится к функциональным тестам. Он основан на определении времени образования сгустка при добавлении к разведенной в 10-20 раз плазме тромбина в высокой концентрации. Между временем образования сгустка и концентрацией фибриногена выявлена логарифмическая зависимость. Метод требует предварительного построения калибровочного графика в соответствии с инструкцией к набору реактивов. При отсутствии программируемых коагулометров данным методом пользоваться нежелательно: небольшая погрешность в определении времени коагуляции приводит к значительным ошибкам в содержании фибриногена. К ограничениям метода относится чувствительность результатов к гипер-, дис-, гиперфибриногенемии и избытку ПДФ, которые снижают активность полимеризации фибриногена.
2. Определение фибриногена по Р.А. Рутберг. Метод основан на взвешивании высушенного фибринового сгустка после добавления к 1 мл плазмы тромбопластин-кальциевой смеси или тромбина. Метод ручной, мало чувствительный и воспроизводимый и считается устаревшим. Однако при гипо- и дисфибриногенемиях его результаты более надежные, чем при методе Клауса.
3. Другие методы (турбидиметрические, фотометрические с использованием хромогенных субстратов, иммунохимические) относятся к концентрационным, так как непосредственно определяют концентрацию фибриногена.

Увеличение содержания (гиперкоагуляция): воспаление, некроз, курение, заболевания почек, коллагенозы, новообразования, атеросклероз, прием оральных контрацептивов, беременность, сахарный диабет, ожирение, стресс.

Снижение содержания (гипокоагуляция): врожденный дефицит, ДВС, печеночно-клеточная недостаточность, острый фибринолиз, лейкозы, инфекционный мононуклеоз, действие лекарственных препаратов (рептилаза, фибраты, фенобарбитал, стрептокиназа, урокиназа, актилизе и др.), физическая нагрузка.

Дисфибриногенемия характеризуется наличием функционально дефектной молекулы фибриногена в плазме крови. Наследственные дисфибриногенемии встречаются редко. Они протекают чаще бессимптомно, иногда с тенденцией к кровоточивости или тромбозам. Приобретенная дисфибриногенемия наблюдается у пациентов с тяжелыми заболеваниями печени. Дисфибриногенемии характеризуются следующими лабораторными показателями:

- увеличением тромбинового и рептилазного времени,
- расхождением результатов при измерении уровня фибриногена функциональным тестом (по Клаусу, низкое) и концентрационным (более высокое или нормальное).

Дополнительные тесты.

Оценка системы фибринолиза. Фибринолитическая активность.

Для оценки системы фибринолиза можно проводить тесты, которые позволяют измерить концентрацию тех или иных факторов (плазминоген, α_2 -антиплазмин, концентрацию плазмин-антиплазминового комплекса и др.). Однако наиболее общее представление о системе фибринолиза может быть получено при проведении традиционного функционального теста – оценки фибринолитической активности крови (ФАК). Тест отличается простотой исполнения и отсутствием специального оборудования. Недостатком является невозможность автоматизации. Результат теста на ФАК зависит от уровня фибриногена, качества полимеризации фибрина и наличия гепарина.

В настоящее время используется две модификации теста.

1. Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз. При осаждении белков плазмы крови слабой, как правило, уксусной кислотой, происходит осаждение так называемой эуглобулиновой фракции, которая содержит фибриноген, факторы свертывания, плазминоген и его активаторы, но практически свободна от ингибиторов фибринолиза. При таком мягком осаждении белки не теряют своих свойств. После растворения осажденных белков в буферном растворе, добавлении CaCl_2 и образовании после этого фибринового сгустка время лизиса сгустка отражает ФАК. Референтные пределы 2-4 часа.

2. XIIa-зависимый фибринолиз (или Хагеман-зависимый фибринолиз, ф. XII - фактор Хагемана) отличается от спонтанного тем, что при осаждении белков в реакционную смесь добавляют каолин. Каолин является активатором ф. XII и внутреннего пути фибринолиза. Время проведения анализа резко сокращается, так как лизис сгустка составляет 4-12 мин.

При выборе метода оценки ФАК необходимо учитывать особенности патологии пациента. Так, при скрининговых исследованиях, при обследованиях

беременных и других пациентов с тромбофилией, адекватным будет определение XIIIa-зависимого фибринолиза. Для пациентов с ДВС-синдромом, после операций на органах внутренней секреции или с метастазирующими опухолями, а также при других состояниях с возможностью гиперфибринолиза, более подходит определение спонтанного эуглобулинового фибринолиза: при активации фибринолиза время лизиса сгустка сокращается, а достоверно визуально отследить растворение сгустка за период времени менее 4-х минут практически невозможно.

Активация фибринолиза (укорочение времени лизиса сгустка, гипокоагуляция) наблюдается при уменьшении концентрации фибриногена, гипо- и дисфибриногенемиях, панкреатитах и панкреонекрозах, операциях на органах внутренней секреции и легких, акушерских осложнениях, введении адреналина, пирогенных реакциях, метастазирующих опухолях, ДВС-синдроме, снижении уровня ингибиторов плазминогена, лечении фибринолитиками и активаторами плазминогена.

Ингибирование фибринолиза (удлинение времени лизиса сгустка, гиперкоагуляция) наблюдается при гиперфибриногенемии, врожденном дефиците плазминогена или его аномалиях, снижении плазминогена и его активаторов при повышенном потреблении или сниженном синтезе (тромбозы, васкулиты, сепсис, заболевания печени, ДВС-синдром), беременности.

Тест может применяться для контроля эффективности лечения фибринолитиками.

Оценка антикоагуляционного звена гемостаза.

Противосвертывающая система, которая ограничивает процессы свертывания крови, представлена несколькими белками. К основным физиологическим антикоагулянтам относятся антитромбин (АТ, ранее антитромбин III), и система протеина С («си»). Эти системы имеют различный механизм действия: АТ ингибирует ферменты свертывания, а система протеина С инактивирует кофакторы ферментов, поэтому исследования должны включать анализ обеих систем. Дефицит или дефект как одного, так и другого антикоагулянта являются подтвержденными факторами риска развития тромбозов.

Антитромбин.

Антитромбин – это гликопротеид с ОММ 58000Д, который синтезируется в печени. В связи с низкой ОММ (<70000Д) он легко выводится через почки. АТ ингибирует сериновые протеазы, в первую очередь тромбин (ф. IIa) и ф. Ха. В присутствии гепарина активность АТ увеличивается в тысячи раз. Противосвертывающее действие гепарина реализуется через АТ, без которого

гепарин не оказывает антикоагулянтного эффекта. По литературным данным, на долю АТ приходится 75-90% всего антикоагулянтного потенциала.

Методы определения.

1. Клоттинговые методы. Это скрининговые функциональные методы, которые оценивают активность АТ по ингибирующему действию на тромбин. Тест калибруется по нормальной донорской плазме и оценивается в процентах. Референтные значения составляют от 75 до 125%.
 2. Методы с хромогенным субстратом позволяют оценить амидолитическую активность АТ, которая может не соответствовать его биологической активности. Однако простота и доступность метода получили широкое распространение в КДЛ.
 3. Иммунохимические методы определяют концентрацию антитромбина.
- Снижение активности (гиперкоагуляция).**

Врожденное: дефицит или аномалии АТ.

Приобретенное:

Заболевания печени (снижение синтеза).

Выраженная протеинурия (повышенное выведение АТ через почки).

Злокачественные новообразования (активация коагуляции, рост потребления).

Прием оральных контрацептивов, кортикостероидов, лечение L-аспарагиназой.

Беременность и поздние токсикозы беременности (гестозы).

Массивное образование тромбина (ДВС, сепсис, терминальные состояния).

Лечение большими дозами гепарина.

Большинство случаев дефицита АТ является приобретенным. Следует иметь в виду, что при снижении АТ <60% резко повышается риск развития тромбозов, поэтому всем пациентам с тромбофилиями и указанными выше состояниями необходимо определять активность АТ. Перед лечением большими дозами гепарина, в том числе ДВС-синдрома, контроль АТ исключительно полезен, так как при падении уровня АТ гепарин не оказывает эффекта. Установлено, что восстановление уровня антикоагулянтов при остром и подостром ДВС-синдроме свидетельствует о благоприятном прогнозе заболевания.

Повышение активности (гипокоагуляция): острый вирусный гепатит, холестаза, прием анаболических стероидов, лечение АНД.

Система протеина С.

Основными белками системы протеина С являются протеин С и его кофактор протеин S. Это витамин К-зависимые сериновые протеазы, которые синтезируются в печени. Действие системы протеина С направлено на инактивацию факторов VIIIa и Va - ускорителей процесса свертывания плазмы. При активации системы протеина С также ингибируется PAI-1, что приводит к запуску фибринолиза. Белки системы протеина С в физиологических условиях активируются тромбином. Для активации необходимо наличие фосфолипидов и Ca^{++} , что характерно для всех витамин К-зависимых факторов. В условиях *in vitro* система запускается протаксом – активатором из яда змеи щитомордника.

Тесты системы протеина С включают оценку общей активности системы протеина С, определение активности протеина С, протеина S, фактора Va.

Методы определения.

Оценка системы протеина С может проводиться с помощью клоттинговых и иммунохимических методов, а также с использованием хромогенных субстратов.

Скрининговый метод оценки общей активности системы протеина С.

Метод разработан на основе модифицированного теста АЧТВ. При наличии в плазме активированного протеина С (АПС) время свертывания плазмы здорового человека удлиняется за счет инактивации факторов VIIIa и Va. Активация проводится добавлением протакса. При проведении теста измеряется время свертывания плазмы пациента с АПС и без АПС. В некоторых модификациях метода время свертывания плазмы пациента сравнивается со временем свертывания нормальной донорской плазмы. В методике анализа приводится формула для расчета нормализованного отношения и критерии оценки теста в цифровом выражении, которые зависят от используемых реагентов.

У ряда пациентов практически отсутствует удлинение АЧТВ при добавлении АПС. В связи с этим был введен термин «резистентность к активированному протеину С».

Снижение активности системы протеина С обусловлено одной из трех причин: дефицитом протеина С, дефицитом протеина S или резистентностью фактора Va к АПС. Структурное изменение молекулы ф. V ведет к невозможности его полной инактивации под действием АПС. Для дифференциальной диагностики нарушений проводят тесты, указанные выше, в полном объеме.

Несмотря на то, что на долю системы протеина С приходится всего 10-15% всей антикоагуляционной активности крови, снижение уровня протеина С и его кофакторов до 50% от нормы приводит к появлению рецидивирующих венозных тромбозов, ювенильных тромбозов, которые появляются в молодом возрасте, и тромбэмболий. Гомозиготная недостаточность протеина С вызывает развитие фульминантной пурпуры у детей, практически несовместимой с жизнью. Гетерозиготный дефицит проявляется ранними тромбозами.

Снижение активности (гиперкоагуляция). Различают наследственные и приобретенные факторы, снижающие активность системы протеина С.

Наследственные факторы: мутации в генах протеина С, протеина S, фактора V. Мутация фактора V Лейден, наиболее распространенная среди европейского населения, вызывает резистентность к АПС.

Приобретенные факторы: наличие волчаночных антикоагулянтов, беременность, избыток фактора VIII, возраст старше 50 лет, ДВС-синдром, заболевания печени, сепсис, лечение L-аспарагиназой, дефицит витамина К, лечение варфарином и другими АНД.

Антикоагулянты непрямого действия снижают синтез всех витамин-К-зависимых факторов, в том числе протеина С и протеина S. Варфарин, назначенный пациентам с низкой активностью протеина С, провоцирует тромбозы и некрозы кожи. Перед назначением варфарина, особенно пожилым и лицам с ранними тромбозами, необходимо проводить тест на общую активность системы протеина С. При низкой активности системы варфарин рекомендуется вводить постепенно, начиная с малых доз, или заменить фракционированным гепарином.

Оценка уровня тромбинемии.

Процессы свертывания крови у человека идут постоянно, но они носят локальный характер. При активации процессов свертывания происходит повышенная генерация тромбина, который в физиологических условиях запускает процесс превращения растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин. Очевидная оценка уровня коагуляции по количеству тромбина привлекательна, но недоступна, так как тромбин имеет короткий срок жизни, и определить его количество в плазме практически невозможно. Уровень тромбинемии, и, соответственно, активность процессов свертывания, оценивают по продуктам, которые образуются при активации протромбина и превращении тромбином фибриногена в фибрин.

При активации протромбина образуются различные продукты, но обязательным является формирование тромбина и фрагмента F1+2, между

которыми существует стехиометрическое соотношение. По уровню F1+2 можно отслеживать как гиперкоагуляцию (рост), так и гипокоагуляцию (снижение). Время жизни фрагмента F1+2 составляет 30 мин. При взаимодействии тромбина с антитромбином образуются тромбин-антитромбиновые комплексы (ТАТ), которые также могут быть использованы в качестве маркера тромбинемии. Однако наиболее доступный способ оценки уровня тромбинемии - определение веществ, которые образуются при активации и разрушении фибриногена и фибрина.

При активации тромбином фибриногена от последнего отщепляются два фибринопептида А (ФПА), два фибринопептида В (ФПВ) и образуется фибрин-мономер. Определение ФПА достаточно давно используется как маркер активации гемостаза, однако он быстро выводится почками. Фибрин-мономер формирует фибрин-олигомеры и полимеры растворимого фибрина, которые под действием фибрин-стабилизирующего фактора (XIII) превращаются в нерастворимый фибрин (рис.3). Далее фибриновый сгусток лизируется плазмином с образованием Д, Е, Д-Е и Д-Д-фрагментов фибрина - Д-димеров. При высокой активности плазмينا, снижении уровня антиплазминов и высоком уровне фибриногена плазмин может расщеплять фибриноген с образованием Д, Е, и Д-Е-фрагментов. Все эти продукты называются продуктами деградации фибрина/фибриногена (ПДФ). Их количество можно измерять иммунологическими методами с использованием поликлональных антител.

У здорового человека уровень ПДФ очень мал и не всегда определяется обычными лабораторными тестами. Кроме того, ПДФ утилизируются фагоцитами. При активации свертывания крови уровень ПДФ возрастает, происходит расширение пула фибриногена, и одновременно активируется фибринолиз. Продукты начинают взаимодействовать между собой, образуя растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), которые препятствуют полимеризации фибриногена и тем самым выполняют роль вторичных антикоагулянтов. Из всех ПДФ единственным фрагментом, который образуется только из фибрина тромба, являются Д-димеры.

Доступные методы определения составляющих ПДФ.

Паракоагуляционные тесты.

К паракоагуляционным тестам относятся орто-фенентролиновый, этаноловый и протаминсульфатный. Они основаны на образовании геля или хлопьев при добавлении к плазме крови пациента с тромбинемией орто-фенантролина, 50% этанола или протаминсульфата. В настоящее время орто-фенантролиновый тест используется как полуколичественный. Остальные методы считаются мало чувствительными, плохо воспроизводимыми и устаревшими.

Определение РФМК орто-фенантролиновым методом.

Метод основан на появлении хлопьев паракоагулята при добавлении орто-фенантролина к бедной тромбоцитами плазме пациентов. Время появления хлопьев отражает степень тромбинемии: чем выше уровень РФМК, тем раньше появляются хлопья. Тест ручной полуколичественный. Реагенты отечественные.

Повышение РФМК (гиперкоагуляция) наблюдается во всех случаях тромбинемии: при тромбофилии, тромбозах и тромбэмболиях, беременности, высоком уровне фибриногена, ДВС-синдроме. Тест может применяться для оценки эффективности и достаточности проводимой антикоагулянтной терапии по конечному результату – ликвидации тромбинемии. Для подтверждения или исключения наличия тромбов метод применяться не может.

Растворимый фибрин (РФ).

Иммунологические тест-системы для определения РФ выпускаются зарубежными производителями. Так как реакция основана на взаимодействии фибрин-мономеров с антителами к ним, тест реально определяет фибрин-мономеры, которые образуются только из фибриногена. Их уровень резко повышается при генерализации процессов свертывания, то есть при ДВС-синдроме. Во всех остальных ситуациях фибрин-мономеры либо полимеризуются, либо присоединяются к другим ПДФ и в свободном виде встречаются в крайне низких концентрациях. Поэтому данный метод подходит исключительно для диагностики и мониторинга ДВС-синдрома.

Д-димеры.

Это специфические продукты деградации фибрина, входящего в состав тромба. Концентрация Д-димеров пропорциональна активности фибринолиза и количеству лизированного фибрина, то есть размеру тромба.

Для определения концентрации Д-димеров применяются иммунологические методы с использованием моноклональных антител. Производятся наборы реагентов для ИФА-диагностики, латексной агглютинации, иммунодиффузии, иммунотурбидиметрии.

Повышение уровня Д-димеров наблюдается при тромбозе глубоких вен, ТЭЛА, ДВС, тромбофилии, беременности (увеличение в 3-4 р.), лечении тромболитиками, обширных гематомах, а также при онкологических заболеваниях, инфекциях, воспалении, болезнях печени, в возрасте старше 80 лет, при наличии ревматоидного фактора, при заживлении ран.

Снижение уровня Д-димеров наблюдается при лечении антикоагулянтами прямого и непрямого действия.

Для Д-димеров наиболее характерна отрицательная диагностическая значимость (около 100%). Метод может использоваться для исключения диагноза тромбоза, так как отрицательный результат с высокой долей вероятности позволяет исключить этот диагноз.

Выявление эффектов волчаночного антикоагулянта (ВА).

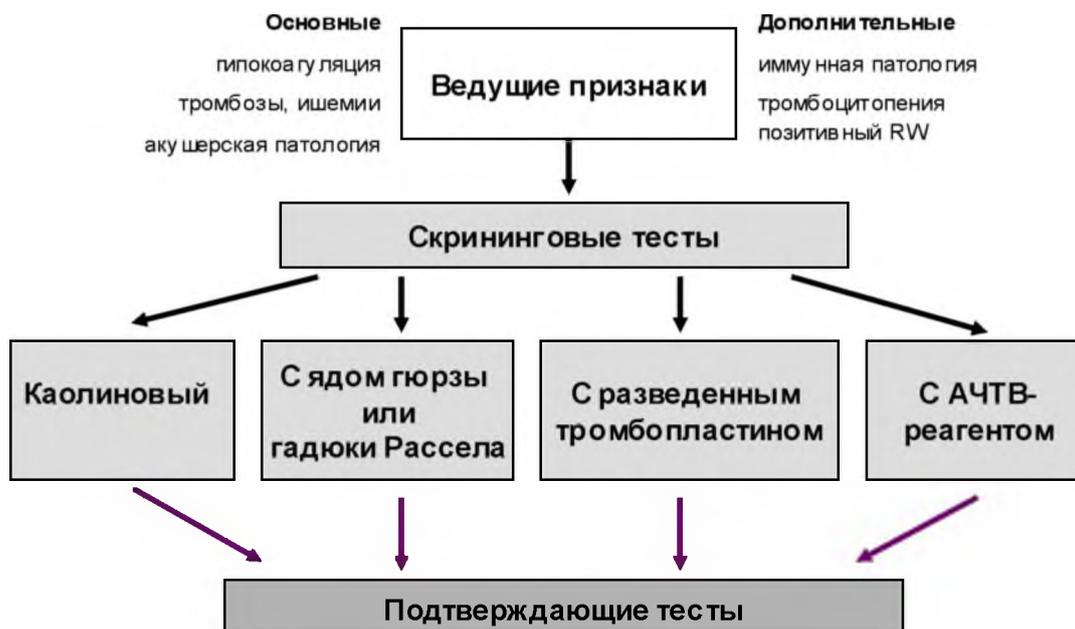
Волчаночные антикоагулянты (Lupus Anticoagulants, LA) – это иммуноглобулины классов А, М и G, действие которых направлено против фосфолипид-белковых комплексов. Так как фосфолипиды неотделимы от процессов свертывания, антитела к ним замедляют процессы свертывания плазмы во всех фосфолипид-зависимых тестах без снижения активности отдельных факторов. Понятие относительно виртуальное, так как ВА не выделены и не идентифицированы. Их присутствие оценивают по оказанному эффекту - удлинению времени свертывания БТП в фосфолипидзависимых тестах (АЧТВ, ПТ). ВА обнаруживаются при АФС, СКВ и других коллагенозах, вирусных инфекциях, лечении некоторыми фармакологическими препаратами. В основе появления ВА лежит аутоиммунная патология.

Анализ на ВА назначают при наличии клинической симптоматики (артериальные или венозные тромбозы, особенно в детском и молодом возрасте, относительная тромбоцитопения и др.). В настоящее время на ВА обследуют беременных женщин, так как почти половина спонтанных абортов на ранних сроках беременности связана с наличием АФС. Алгоритм выявления ВА представлен на рис. 8.

В условиях обычной КДЛ для выявления эффекта ВА, как правило, проводятся скрининговые тесты, которые выявляют эффекты ВА, то есть удлинение времени свертывания в фосфолипидзависимых тестах: каолиновом времени свертывания БТП, тесте с разведенным тромбопластином, тесте с ядом гюрзы или гадюки Рассела, тесте с использованием тромбопластина с высокой чувствительностью к ВА. Наиболее часто используются последние два теста.

Рис. 8. Алгоритм выявления волчаночного антикоагулянта

(З.С. Баркаган, А.П. Момот)



Для исследования на ВА используется корректно полученная бедная тромбоцитами плазма (БТП). Использование гепаринизированной и замороженной плазмы не допускается. Все тесты проводятся клоттинговым методом. Мануальное проведение тестов возможно, но точность анализов возрастает при работе на коагулометре. Оценка тестов основана на сравнении показателей коагуляции пациента и здорового донора, поэтому анализ плазмы больного проводится параллельно с анализом нормальной плазмы.

Основные скрининговые тесты.

Тесты с разведенным ядом гюрзы или гадюки Рассела. Коагулазы этих змей – фосфолипидзависимые активаторы фактора X. Удлинение времени свертывания плазмы пациента по сравнению с контрольной (донорской) плазмой может быть связано с ВА. Для теста рассчитывают так называемое нормализованное отношение (НО, NR), которое учитывает степень замедления свертывания плазмы. Расчет показателя и интерпретация результатов зависят от используемых реагентов и указаны в методике анализа

Тест с АЧТВ-реагентом, чувствительным к ВА. Чувствительность АЧТВ-реагентов к ВА зависит от входящих в состав набора фосфолипидов. Использование АЧТВ-

реагентов, нечувствительных к ВА, практически не удлиняет время свертывания плазмы пациентов, имеющих ВА. Использование АЧТВ-реагентов, чувствительных к ВА, существенно удлиняет время свертывания плазмы пациентов при наличии ВА по сравнению с донорской плазмой. Расчет степени замедления свертывания плазмы и интерпретация полученных результатов зависят от используемых реагентов и указаны в методике анализа.

Удлинение времени свертывания БТП может быть связано не только с эффектом ВА, но также с дефицитом или патологическим ингибированием факторов. Поэтому рекомендуется проводить подтверждающие тесты, которые устанавливают, что гипокоагуляция в скрининговых тестах обусловлена наличием ВА. Для этого необходимо иметь пул донорской плазмы и раствор мембран разрушенных тромбоцитов или эритрофосфатида.

1. При дефиците факторов добавление 10% донорской плазмы укорачивает время АЧТВ, а добавление 50% объема донорской плазмы нормализует время.
2. При наличии ВА нормализация времени свертывания БТП наступает после добавления мембран разрушенных тромбоцитов или эритрофосфатида.
3. При патологическом ингибировании факторов наблюдается отсутствие коррекции гипокоагуляции в обоих случаях (при добавлении мембран и плазмы) (табл. 9). Ингибирование факторов в большинстве случаев связано с образованием антител класса IgG. Антитела обычно появляются при аутоиммунных заболеваниях, при лечении антибактериальными препаратами, после беременности, у пожилых и при проведении кровозамещающей терапии.

Табл.9.

Тесты, подтверждающие наличие ВА.

Патология	Тест на ВА	Коррекция тромбоцитами или эритрофосфатидом	Коррекция плазмой
Наличие ВА	+	+	-
Дефицит факторов	+	-	+
Ингибирование факторов	+	-	-

Наличие ВА не является синонимом антифосфолипидного синдрома или системной красной волчанки (СКВ). Для диагностики АФС необходимо измерить уровень антител к мембранным фосфолипидам и к гликопротеидам, связанным с фосфолипидами. Только при повышении содержания обеих групп антител,

выявлении ВА и наличии клинической симптоматики возможна постановка диагноза АФС. СКВ диагностируется другими методами.

Лабораторная диагностика и мониторинг ДВС-синдрома.

Для подтверждения диагноза и объективной оценки эффективности проводимой терапии в лаборатории используются следующие группы тестов (табл. 10).

Таблица 10

Доступные лабораторные тесты при ДВС-синдроме

<i>Тест</i>	<i>Патология</i>
Подсчет тромбоцитов	Тромбоцитопения (< 150 000), не доходящая до критической
Концентрация фибриногена	Относительное или абсолютное снижение (< 1,5 г/л)
Уровень тромбинемии (РФМК) растворимый фибрин, Д-димер, этаноловый тест)	Повышение (ДВС развивается на фоне тромбинемии)
Уровень антикоагулянтов	Снижение
Фибринолитическая активность (эуглобулиновый фибринолиз)	Активация на фоне снижения плазмينا
АЧТВ, ПВ, ТВ	Фазовые изменения (чаще удлинение)

1. Подсчет количества и оценка функции тромбоцитов, так как для синдрома характерна прогрессирующая, тромбоцитопения с повышением агрегации тромбоцитов. При подсчете тромбоцитов в гематологическом анализаторе необходимо просматривать гистограммы тромбоцитов и эритроцитов. Такая необходимость связана с появлением при ДВС-синдроме большого количества фрагментов эритроцитов.
2. Оценка уровня тромбинемии, выбор тестов для которой определяется возможностями лаборатории. Могут быть использованы тесты на растворимый фибрин (РФ), РФМК, фибринопептиды А, Д-димеры и другие. Следует отметить, что повышение РФ наблюдается только при ДВС-синдроме, в то время как уровень РФМК бывает повышенным при большом

перечне патологии, а Д-димеры образуются при активации фибринолиза и расщеплении фибрина сгустка.

3. Оценка уровня антикоагулянтов: антитромбина и протеина С. При лечении пациента в фазе гиперкоагуляции наиболее актуально определение активности антитромбина до и в процессе лечения, так как гепарин без антитромбина не действует, а нарастание содержания АТ в процессе лечения свидетельствует о благоприятном течении заболевания.
4. Измерение концентрации фибриногена, содержание которого прогрессивно снижается. При низком уровне фибриногена его концентрацию лучше определять не клоттинговыми, а другими методами, включая метод по Рутберг.
5. Оценка фибринолитической активности (ФАК). ФАК следует определять методом эуглобулинового фибринолиза, так как тест на XIIa-зависимый фибринолиз с активацией контактной фазы будет малоинформативным из-за короткого времени растворения сгустка (4-12 мин) и невозможности отследить степень активации процесса.
6. Другие коагуляционные тесты (ПВ, АЧТВ, ТВ) могут иметь разнонаправленные значения в зависимости от фазы заболевания. Они используются для общей оценки коагуляции. При лечении гепарином время в тестах может быть удлинено за счет присутствия гепарина. Гепарин можно инактивировать протаминсульфатом, а тест на тромбиновое время заменить тестом на рептилазное время, которое не пролонгируется гепарином.

Суммарный средний индекс тромбогенности (ССИТ).

Суммарный средний индекс тромбогенности (тромбофилии) ССИТ – суммарный средний показатель, рассчитанный из величин любого числа показателей функционирования системы гемостаза по звеньям. Для расчета берутся средние величины нормы и величина, полученная у больного. Рассчитывается индекс каждого показателя (ИТ_j), приведенный к единице, так, чтобы величины ниже единицы указывали на гипокоагуляцию, а выше единицы – на гиперкоагуляцию. Для этого показатель средней нормы (N) делится на показатель больного (A), или наоборот. Все индексы суммируются и делятся на количество показателей в данном звене гемостаза (n_j) – получается индекс тромбогенности по конкретному звену (ИТ_i). Затем суммируются индексы по звеньям, и сумма делится на количество исследованных звеньев(n_i). В результате получают суммарный средний индекс тромбогенности.

$$ИТ_j = \frac{N}{A} \quad ИТ_i = \frac{\sum ИТ_j}{n_j} \quad ССИТ = \frac{\sum ИТ_i}{n_i}$$

ССИТ является интегральным показателем сбалансированности функционирования системы гемостаза.

Далее приводится пример расчета ССИТ коагулограммы пациента (таблица 11).

В таблице представлены 7 измеренных показателей, каждый из которых отражает отдельное звено гемостаза. На основе референтных значений были рассчитаны средние показатели по норме, например для АЧТВ: $(35+45):2=40$ (сек). Далее следовало рассчитать индекс каждого показателя. Для этого необходимо определиться, в каком случае делить показатель пациента на среднее значение нормы, а в каком случае среднее значение нормы делить на показатель пациента. В соответствии с условиями расчета все параметры, которые указывают на гиперкоагуляцию, должны быть >1 , а на гипокоагуляцию - <1 . Направление сдвигов для соответствующего показателя коагулограммы (гипокоагуляция – гиперкоагуляция) указаны для каждого теста (см. описание тестов).

Таблица 11.

Пример коагулограммы для расчета ССИТ

Показатель	Значение пациента	Норма	Среднее нормы	Индекс показателя
АЧТВ (внутренний путь активации)	29 сек	35-45	40	1,38
Протромбин по Квику % (внешний путь активации)	98%	70-130	100	0,98
Тромбиновое время (конечный этап свертывания)	32 сек	28-32	30	0,94
Фибриноген	4,1 г/л	2-4	3	1,37
Антитромбин (антикоагулянт)	80%	75-125	100	1,25
XIIa-зависимый фибринолиз(оценка фибринолитической системы)	14 мин	4-12	8	1,75
РФМК (уровень тромбинемии)	6 мг%	До 4 мг%		2

Сумма:

9,67

ССИТ 1,38

АЧТВ. При гиперкоагуляции время свертывания снижается, а при гипокоагуляции повышается. Следовательно, для того, чтобы получить при гиперкоагуляции

значение > 1 , надо среднее время нормы разделить на время свертывания плазмы пациента. $40:29=1,38$

Протромбин по Квику. Чем выше коагуляция, тем больше процент протромбина. Поэтому для получения при гиперкоагуляции цифры > 1 , необходимо процент протромбина пациента разделить на среднее значение нормы. $98:100=0,98$

Тромбиновое время. При гиперкоагуляции время свертывания плазмы снижается, а при гипокоагуляции повышается. Следовательно, для того, чтобы получить при гиперкоагуляции значение > 1 , надо среднее значение нормы разделить на время свертывания плазмы пациента: $30:32=0,94$

Фибриноген. Чем больше концентрация фибриногена, тем выше коагуляция. Поэтому для получения при гиперкоагуляции цифры > 1 необходимо концентрацию фибриногена пациента разделить на среднее значение нормы: $4,1:3=1,37$.

Антитромбин. При гиперкоагуляции процент активности антитромбина снижается, а при гипокоагуляции повышается. Следовательно, для того, чтобы получить при гиперкоагуляции значение > 1 , надо среднее значение нормы разделить на процент активности антитромбина пациента: $100:80=1,25$

Фибринолиз. При гиперкоагуляции время фибринолиза повышается, а при гипокоагуляции снижается. Следовательно, для того, чтобы получить при гиперкоагуляции значение > 1 , надо время фибринолиза пациента разделить на среднее значение нормы: $14:8=1,75$.

РФМК. Для РФМК значения в пределах нормы обозначаются как 1, а повышенные как 2.

В данном примере на каждое звено коагуляции приходится 1 тест, поэтому все индексы суммируются и делятся на число тестов (7): $(1,38+0,98+0,94+1,37+1,25+1,75+2):7=1,32$.

При сбалансированной системе гемостаза колебания ССИТ находятся в пределах 0,9-1,1.

Расчет ССИТ помогает в интерпретации результатов коагулограммы. В данном примере ССИТ 1,38 свидетельствует о нарушении баланса и преобладании у пациента процессов гиперкоагуляции. При оценке конкретных тестов становится понятно, что гиперкоагуляция связана с активацией внутреннего пути свертывания плазмы (индекс АЧТВ 1,38), относительным снижением содержания антитромбина и снижением активности фибринолиза (индекс ФАК 1,75). Рост РФМК обусловлен активацией гемостаза.

ССИТ исключительно полезен для интерпретации анализов коагулограммы, так как позволяет определить результирующую сдвигов в системе гемостаза. Наличие соответствующей компьютерной программы, которая позволяет рассчитывать ССИТ автоматически при введении результатов коагулологических исследований, значительно упрощает задачу. Расчет индекса без компьютерной программы при помощи калькулятора очень трудоемок и практически невыполним. Видимо, именно поэтому такой полезный показатель редко используется в практике КДЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В кратком учебном пособии невозможно подробно описать механизмы гемостаза и диагностику всех видов патологии свертывающей системы крови. Тем не менее, в работе кратко изложены механизмы гемокоагуляции, обозначены основные нарушения, связанные со свертывающей системой крови, а также указаны лекарственные препараты, которые наиболее широко используются для лечения патологии гемостаза.

В разделе методов исследования основное внимание уделялось тем тестам, которые могут быть определены в условиях обычной клинико-диагностической лаборатории. Для каждого теста указан принцип определения, а также основные причины снижения или повышения показателя. Для ряда тестов указаны заболевания и состояния, при которых исследование показателя имеет наибольшее диагностическое значение. Учебное пособие направлено, в первую очередь, на помощь в практической работе. Повысить квалификацию в области гемостаза поможет литература, указанная в библиографии.

Библиография

1. Баркаган З.С. «Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии». «Ньюдиамед», М., 2000.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. «Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза». «Ньюдиамед», М., 2001.
3. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А. Шойхет Я.Н. «Основы пролонгированной профилактики и терапии тромэмболий антикоагулянтами непрямого действия». «Ньюдиамед», М., 2003.
4. Бернд Пётч, Катарина Мадленер, Елена Сушко. «Гемостазиология. Рациональная диагностика и терапия». «Здоровье», Киев, 2006.

5. Воробьев П.А. «Синдромы диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови». «Ньюдиамед», М., 1996.
6. Грищук А.И., Иванова Н.В., Шевчук М.И., Ивашковский А.И., Сопина Н.В. «Лабораторная диагностика гемостазиопатий», Киев, 1987г
Киевский медицинский институт им.ак.А.А.Богомольца.

Методические рекомендации.

7. Долгов В.В., Свирин П.В. «Лабораторная диагностика нарушений гемостаза». ООО «Издательство Триада», 2005.
8. «Исследование гемостаза». Пособие для врачей-лаборантов. НПО «Ренам», 2004.
9. Момот А.П. «Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики». Форма Т, С-П, 2006.
10. «Полезные факты о коагуляции». Roche Diagnostics, Diagnostica Stago.
11. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов. НПО «Ренам», М., 1999.
12. Руководство по гематологии. Под редакцией академика А.И. Воробьева. Т 3. «Ньюдиамед», М., 2005.
13. Сидельникова В.М., Шмаков Р.Г. «Механизмы адаптации и дизадаптации гемостаза при беременности». «Триада X», М., 2004.
14. Фред Дж. Шиффман. «Патофизиология крови». «Бином», М., 2001.
15. Яровая Г.А. «Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции» (обзор). Вопросы медицинской химии, №1, 2001.