

---

**Основные лабораторные тесты  
для исследования плазменного звена  
(базисные тесты)**

# Исследование плазменного гемостаза

Среди известных в настоящее время методов исследования плазменного гемостаза можно условно выделить 4 группы:

1. тесты, характеризующие внешний путь образования протромбиназы: протромбиновое время, протромбиновый индекс
2. тесты, характеризующие внутренний путь образования протромбиназы: АЧТВ, активированное время рекальцификации (каолиновое время)
3. тесты, характеризующие конечный этап свертывания: тромбиновое время, и концентрацию фибриногена в плазме
4. тесты, характеризующие непосредственно активность факторов (IX, VIII, XIII)

# Скрининговые тесты оценки плазменного гемостаза

В понятие скрининговой коагулограммы  
входят тесты:

Время кровотечения

Количество тромбоцитов

АЧТВ

Протромбиновое время по Квику

Тромбиновое время

Фибриноген

# АЧТВ

- Оценка внутреннего каскада (Оценка активности ВМК, прекаллекреина, факторов XII, XI, IX, VIII, V , протромбина и в некоторой степени содержания фибриногена)
- Скрининговая диагностика ВА
- Слежение за антикоагулянтным действием гепарина:
  - Укорочение – у больных с тромбофилией (иногда)
  - Удлинение – дефицит факторов, присутствие ПДФ, ВА, ДВС синдром

# Использование АЧТВ для контроля гепаринотерапии

- Лечение гепарином контролируется тестом АЧТВ, «терапевтический диапазон» – удлинение в 1,5- 2,5 раза
- Лечение гирудином контролируется АЧТВ
- Контроль зависит от чувствительности гепаринов
- Контроль зависит от чувствительности АЧТВ-реагентов (не стандартизированы)

# Клинико-диагностическое значение АЧТВ

## **Укорочение:**

Определяется иногда у больных с тромбофилией

Возможно связано с резистентностью фактора V к активному протеину C

Повышенный уровень фактора VIII

Нарушение на преаналитическом этапе

## **Удлинение:**

Врожденный или приобретенный дефицит факторов II V VIII IX X XI XII, прекаллекреин, ВМК

Снижение активности фактора VIII на фоне болезни

Виллебранда

Лечение гепаринами, гирудином

Присутствие в крови ПДФ, ВА

ДВС-синдром

Нарушение функции печени

# Протромбиновое время

- Скрининговый тест для оценки внешнего каскада
- Используется для определения активности VII фактора
- Контроль за лечением непрямыми антикоагулянтами
- Удлиняется: при тяжелых заболеваниях печени, дефиците факторов II, V, VII, X, дефицит витамина К (холестаз, мальсорбция), лечение АНД, ДВС-синдром, гипофибриногенемия, ПДФ, присутствие гепарина
- Укорачивается: состояние гиперкоагуляции, массивное поступление тканевого тромбопластина (травма, некроз), беременность, после родов
- МНО=ПО в степени МИЧ
- ПТ по Квику- % от нормы, которая определяется по калибровке

# Протромбиновое время, выраженное через международное нормализованное отношение (МНО)

- Стандартизованный протромбиновый тест был разработан международным комитетом по стандартизации в гематологии и Международным комитетом по гемостаза в 1983г. В его основу легло наличие линейной зависимости между логарифмами протромбинового времени, определенными разными тромбопластинами. На практике это означает что значения **протромбинового отношения (ПО)**, определенные разными тромбопластинами могут быть приведены путем возведения в степень , представляющую собой МИЧ используемого тромбопластина. Эту величину называли МНО-международное нормализованное отношение.

**Протромбиновое время (ПВ)** –это время образования фибрина при добавлении к ней ионов кальция и тканевого тромбопластина определенной чувствительности и активности.

Результат теста зависит от уровня факторов протромбинового комплекса.

ПВ представляют в сек.

В норме ПВ составляет 11-14 сек при измерении на коагулометре, и 13-15 сек при мануальной технике измерения.

## Выявление дефицита факторов с использованием принципа заменных проб в тесте ПВ

Клотинговый метод определения активности фактора VII основан на использовании заменных проб с плазмой, лишенной фактора VII.

Метод аналогичен определению активности других факторов в тесте АЧТВ, однако при анализе активности фактора VII используется тест ПВ.

# Тромбиновое время

- ТВ- скрининговый тест на полимеризацию фибриногена (фибрина)
- ТВ - скрининговый тест на антикоагулянтную активность в плазме удлиняется: если есть гепарин, ПДФ, тромболитики, ДВС, заболевание печени, врожденная или приобретенная гипофибриногенемия, наличие парапротеинемии (миелома), уремии

# Рептилазное время

- Рептилаза-тромбиноподобная протеаза из яда щитомордника обыкновенного, которая способна вызывать переход фибриногена в фибрин. Рептилаза способна отщеплять от фибриногена только фибринопептид А, что отличает ее от действия тромбина. Рептилаза не подавляется антитромбином, поэтому этот тест может использоваться для оценки полимеризации мономеров фибрина в присутствии гепарина. Этот тест удлиняется при афибриногенемии и при дисфибриногенемии.

# Основные первичные физиологические антикоагулянты

Название

Механизм действия

**АНТИТРОМБИН III**

*Самостоятельно и в комплексе с гепарином инактивация факторов свертывания IIa (тромбина), Xa, IXa*

**Протеины C+S, APC**

*Инактивация факторов свертывания Va и VIIIa, ингибирует PAI, усиливает фибринолиз*

**Тромбомодулин**

*Связывает и инактивирует тромбин, приводя к активации протеина C*

**Ингибитор внешнего пути свертывания - TFPI**

*Ингибитор комплекса «ТФ + ф. VIIa + ф. Xa + Ca<sup>++</sup>»*

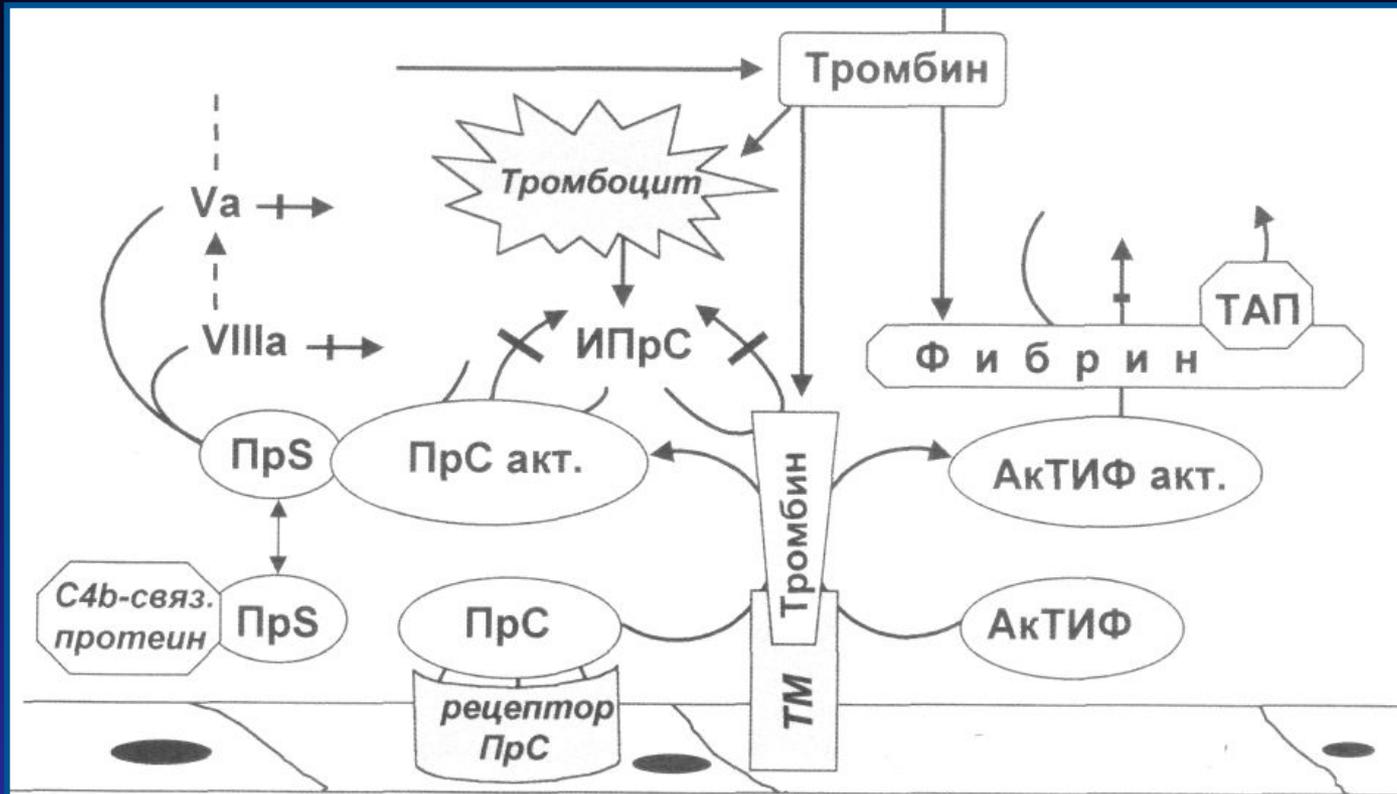
# Определение антитромбина

- *Антитромбин III (количество) - ИХЛ, ИФА*
- *Антитромбин III (активность) – по инактивации стандартного раствора тромбина при добавлении плазмы пациента*
  1. *Клотинговый метод (Абильдгаард, 1970) – трудоемок, нестабильные результаты*
  2. *Метод с хромогенным субстратом (фотометрический)*

*Норма: 75-140% от уровня нормальной плазмы.*

- - гиперпотребление АТ III (тромбоз, ДВС, **введение гепарина**);
- - уменьшение синтеза (тяжелые заболевания печени, шоковые состояния, старческий возраст), действие эстрогенов
- последние месяцы беременности, прием пероральных антикоагулянтов

# Система протеина С



- Система ПС: протеин С, протеин S, тромбомодулин, рецептор протеина С
- Витамин К-зависимый синтез в печени
- Медиаторы воспаления подавляют синтез тромбомодулина, фагоциты отщепляют тромбомодулин от эндотелиальных клеток

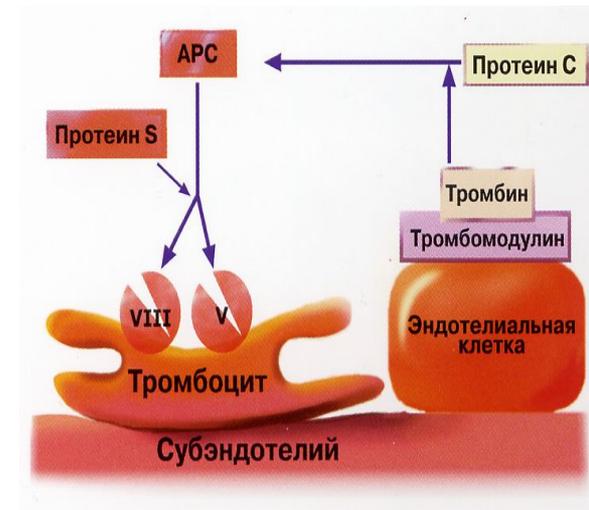
# Исследование протеина С

	Хромогенный	Клоттинговый
Принцип метода	Уменьшение количества хромогенного субстрата путем активации Протеина С in vitro	Увеличение АЧТВ путем активации Протеина С in vitro
Преимущества	<ul style="list-style-type: none"><li>– Стабильность реагентов</li><li>– Воспроизводимость (межлабораторная сходимость)</li><li>– Нет интерференции от ВА, резистентности к АПС, высокому VIII фактору</li><li>– Чувствительность к дефициту и мутациям активного центра</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>– Все патологии, влияющие на Протеин С, определяются. Чувствителен к мутациям не активного центра так же, как и к мутациям активного центра.</li><li>– Глобальный тест</li></ul>
Недостатки	Мутации, не затрагивающие активный центр, не определяются.	<ul style="list-style-type: none"><li>– Занижение результатов при резистентности к АПС и высоком FVIII</li><li>– Завышение результатов в присутствии ВА</li></ul>

# Определение протеина С

**Снижение** - гиперпотребление (тромбозы, тромбофлебиты, ДВС);

- уменьшение синтеза (старческий возраст, болезни печени)
- длительный прием пероральных антикоагулянтов



# Варианты результатов клоттингового и хромогенного тестов

- Клоттинговый тест = низкий,
- Хромогенный тест = норма
  - Дефект протеина С не связан с активным центром
  - Высокая интерференция от фактора VIII
  - Высокая интерференция от резистентности к АПС
- Клоттинговый тест = норма,
- Хромогенный тест = низкий
  - Интерференция от гепарина
  - Интерференция от ВА

# Исследование протеина S

	Иммунотурбидиметрия свободный протеин S	Клоттинговый ПроS
Принцип метода	Латекс-агглютинация	Увеличение ПВ с помощью содержащегося в образце протеина S и добавления активированного протеина C
Преимущества	<ul style="list-style-type: none"><li>– Стабильность</li><li>– Воспроизводимость (межлабораторная сходимость)</li><li>– Нет интерференции от резистентности к АПС, высокому VIIa фактору</li><li>– Чувствительность к дефициту активной формы протеина S</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>– Глобальный тест</li><li>– Так же чувствителен к мутациям функционального центра протеина S</li></ul>
Недостатки	Не чувствителен к функциональным дефектам	<ul style="list-style-type: none"><li>– Занижение результатов при резистентности к АПС и высоком FVIIa</li></ul>

# Варианты результатов исследования

- ПроS = низкий, Свободный PS = норма
  - Дефект протеина S связан с активным центром
  - Высокая интерференция от фактора VIIa
  - Высокая интерференция от резистентности к АПС
- ПроS = норма, Свободный PS = низкий
  - Интерференция от гепарина

# Исследование резистентности к АПС

	Функциональный	Генетический
Принцип метода	Отношение между АЧТВ для плазм с и без активации протеина С образца	«Real time» ПЦР фактора V
Чувствительность	Чувствителен к «синдрому резистентности к АПС» так же, как и к аномалии фактора V Лейден	-100% чувствительность и специфичность к мутации фактора V Лейден

# Физиологические антикоагулянты

Наименование	Механизм действия	Время полужизни
ТАFI (ингибитор тканевого пути свертывания)	Ингибитор комплекса ТФ –ФVIIa-ФХа-Са	
Антитромбин III	Прогрессивно действующий ингибитор тромбина и фактора Ха. Плазменный кофактор гепарина и пентасахаридов (арикстра)	68 часов
Кофактор гепарина II	Образует комплекс с гепарином, особенно активен в плазме, лишенной антитромбина III	60 часов
Протеин С	Витамин К-зависимый ингибитор факторов Va, VIIIa, в комплексе с протеином S активизирует фибринолиз. Активируется комплексом «тромбин-тромбомодулин»	7-8 часов
Протеин S	Витамин К-зависимый кофактор протеина С	7-8 часов