
**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⁺⁺»

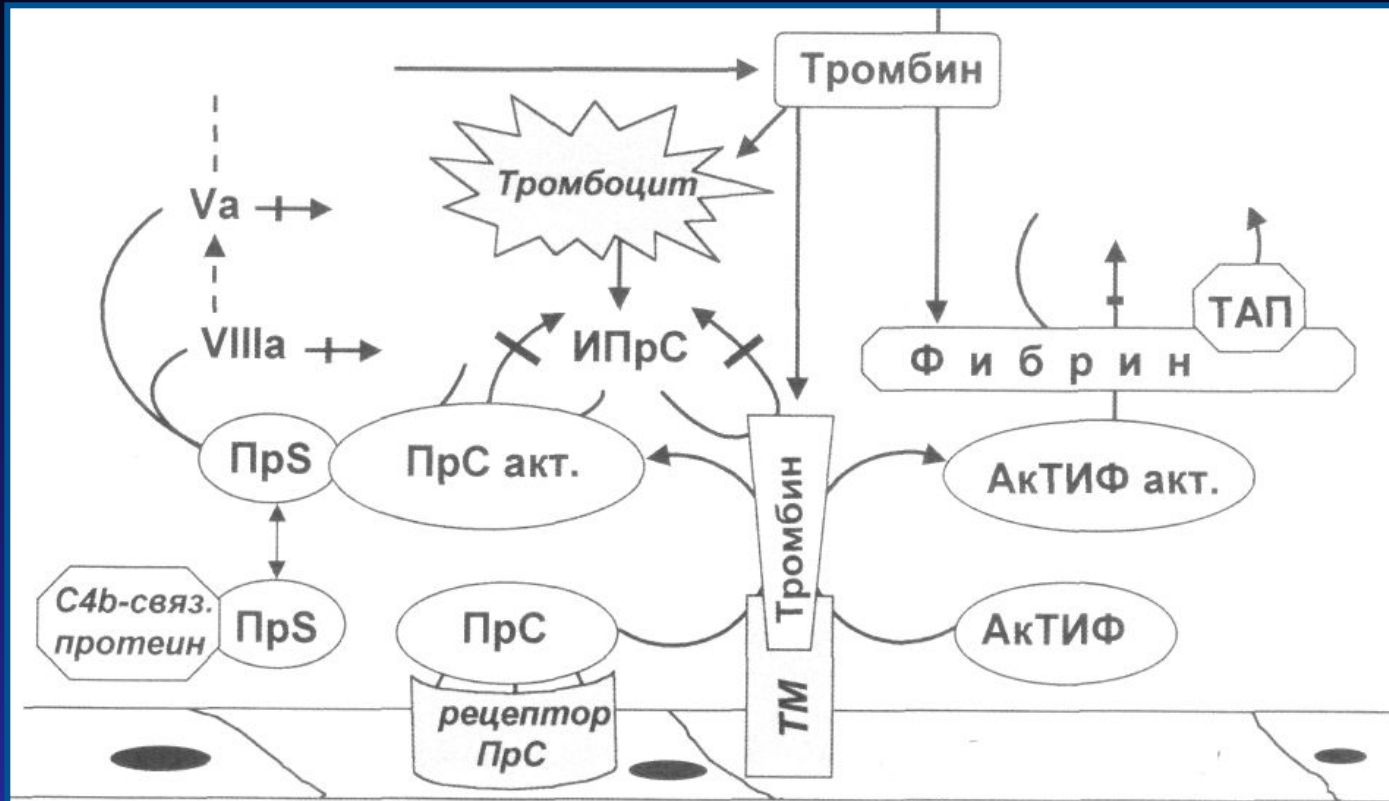
Определение антитромбина

- *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 PC: протеин C, протеин S, тромбомодулин, рецептор протеина C
- Витамин K-зависимый синтез в печени
- Медиаторы воспаления подавляют синтез тромбомодулина, фагоциты отщепляют тромбомодулин от эндотелиальных клеток

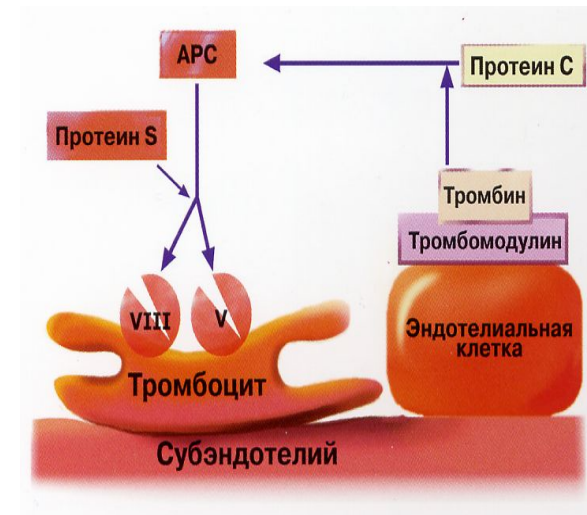
Исследование протеина С

	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">– Стабильность реагентов– Воспроизводимость (межлабораторная сходимость)– Нет интерференции от ВА, резистентности к АПС, высокому VIII фактору– Чувствительность к дефициту и мутациям активного центра	<ul style="list-style-type: none">– Все патологии, влияющие на Протеин С, определяются. Чувствителен к мутациям не активного центра так же, как и к мутациям активного центра.– Глобальный тест
Недостатки	Мутации, не затрагивающие активный центр, не определяются.	<ul style="list-style-type: none">– Занижение результатов при резистентности к АПС и высоком FVIII– Завышение результатов в присутствии ВА

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">– Стабильность– Воспроизводимость (межлабораторная сходимость)– Нет интерференции от резистентности к АПС, высокому VIIa фактору– Чувствительность к дефициту активной формы протеина S	<ul style="list-style-type: none">– Глобальный тест– Так же чувствителен к мутациям функционального центра протеина S
Недостатки	Не чувствителен к функциональным дефектам	<ul style="list-style-type: none">– Занижение результатов при резистентности к АПС и высоком FVIIa

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