

**ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**  
**КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ И ЛАБОРАТОРНОЙ**  
**ДИАГНОСТИКИ**

**СВЕРТЫВАЮЩАЯ И АНТИСВЕРТЫВАЮЩАЯ**  
**СИСТЕМЫ КРОВИ**

**(система гемостаза)**

Д.м.н. профессор Грашин Р.А

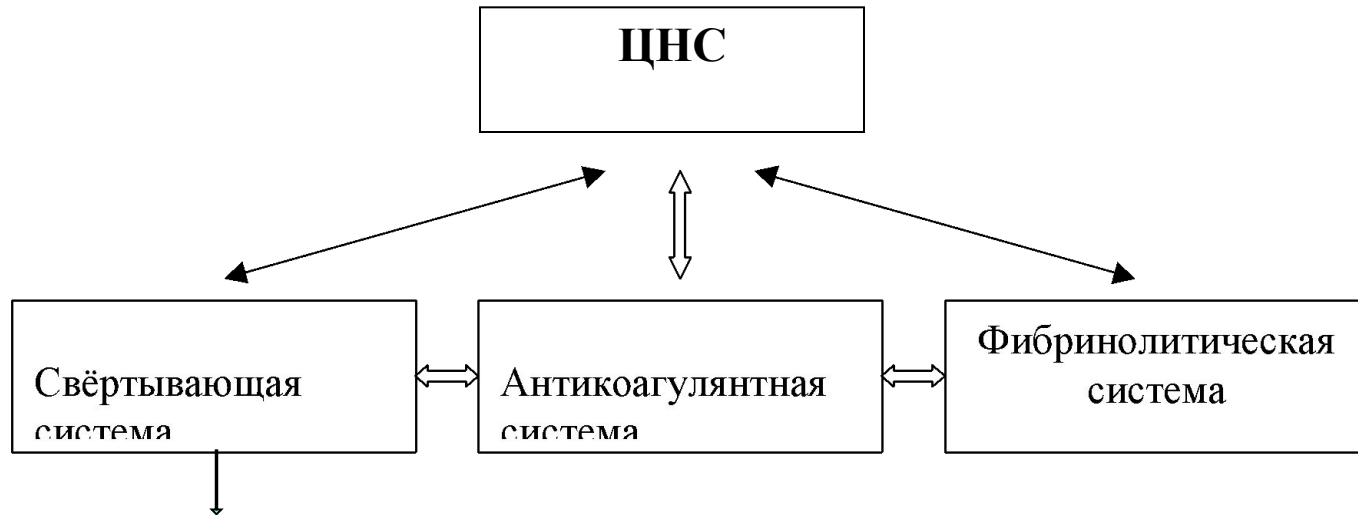
**Система гемостаза** представляет собой совокупность морфо-функциональных биохимических механизмов, обуславливающих остановку кровотечения, и вместе с тем, поддерживающих кровь в жидком состоянии внутри сосудов.

Можно сказать, что это **система поддержания крови в физиологическом агрегатном состоянии.**

### **Основные компоненты системы:**

- тромбоциты и содержимое их гранул;
- эндотелий сосудов;
- специализированные белки плазмы крови.

# Основные звенья системы гемостаза



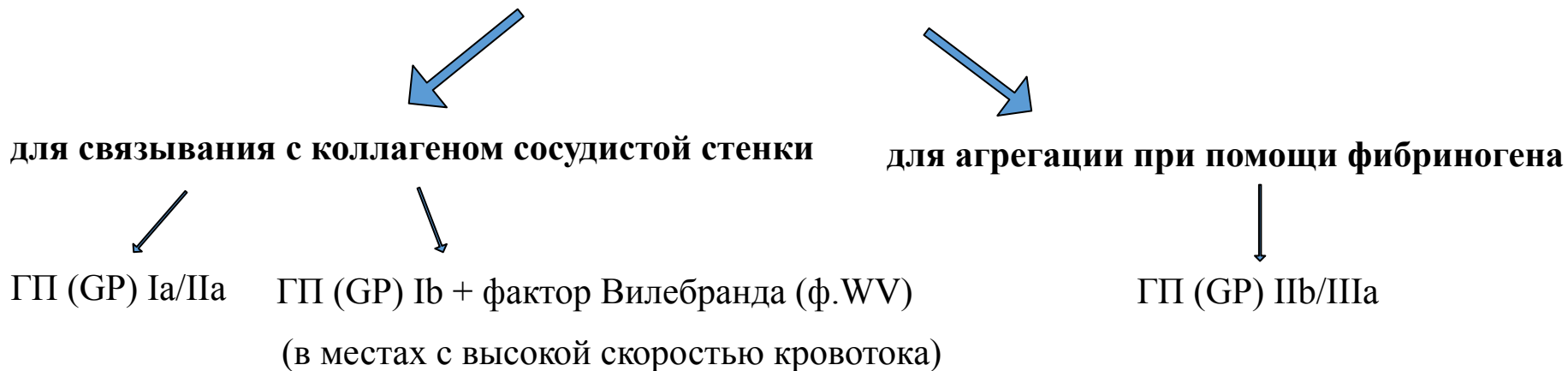
1. Гемостаз первичный - сосудисто-тромбоцитарный
2. Гемостаз вторичный - плазменно-коагуляционный

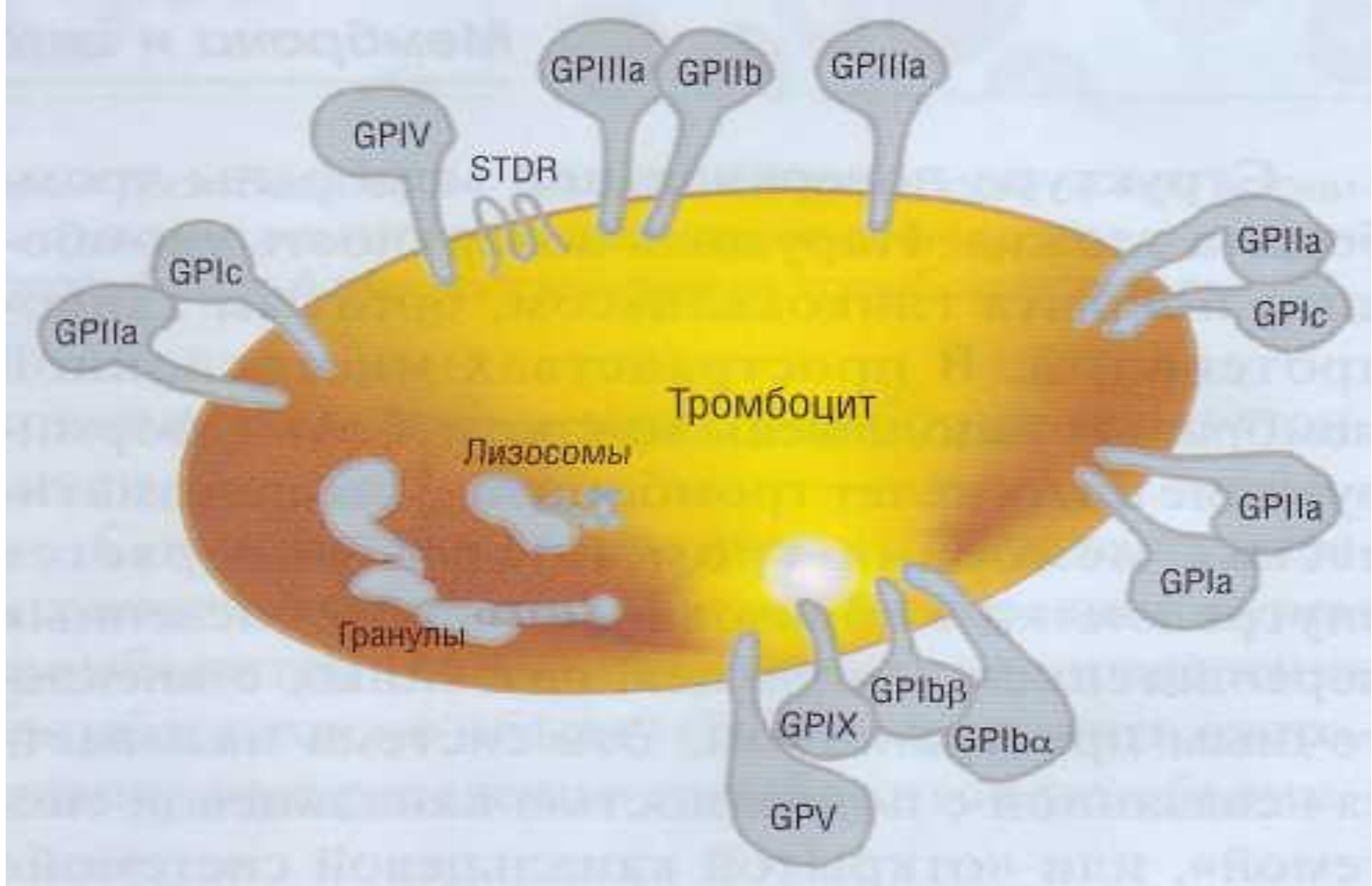
# ПЕРВИЧНЫЙ ИЛИ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ

## Основные функции тромбоцитов :

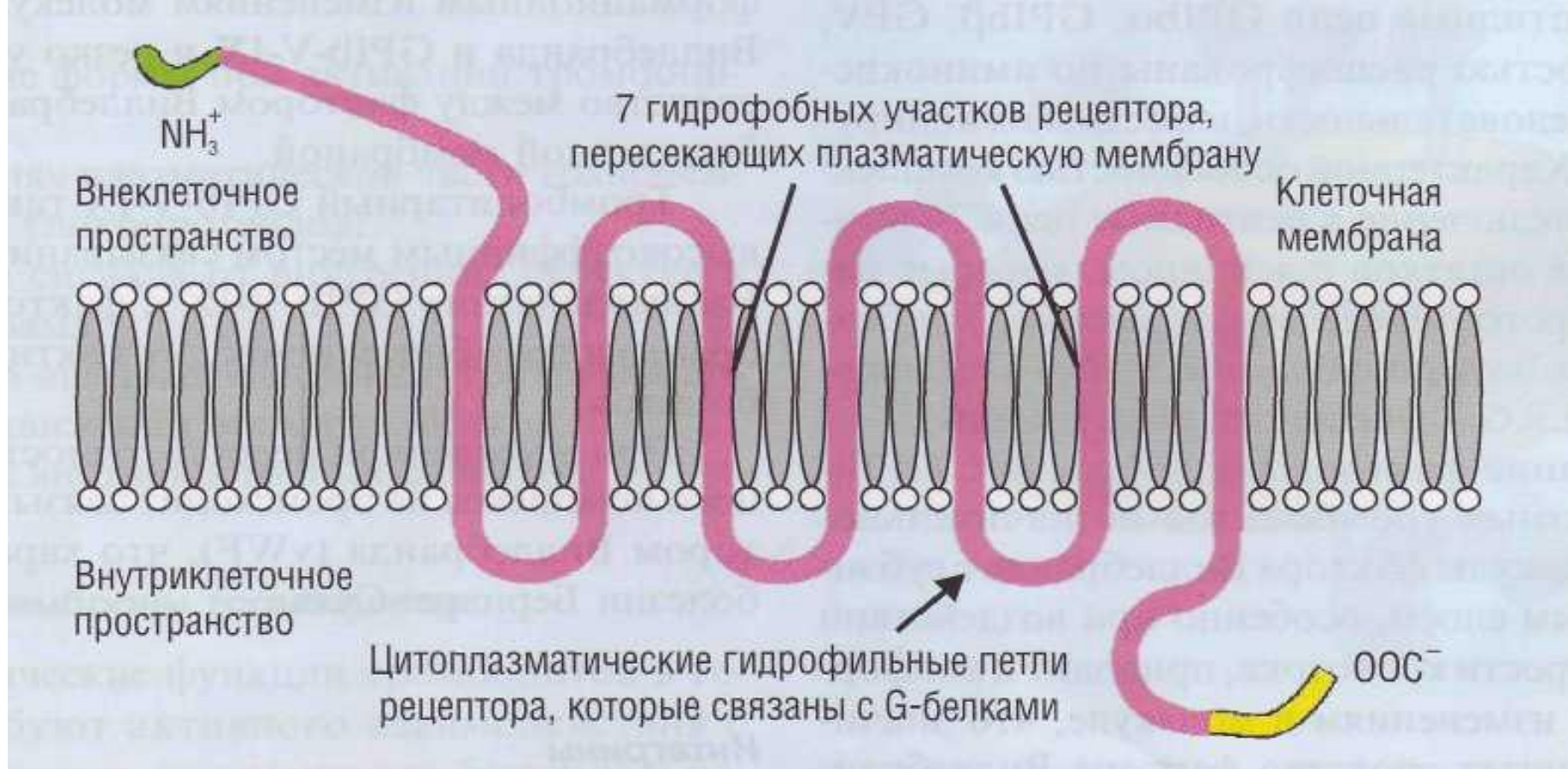
1. Адгезия - прилипание к контактной поверхности.
2. Агрегация - связывание между собой.
3. Секреция (реакции высвобождения) - выход из гранул различных БАВ.
4. Ретракция - сокращение при помощи собственной акто-миозиновой системы.

## Основные гликопротеиновые рецепторы тромбоцитов

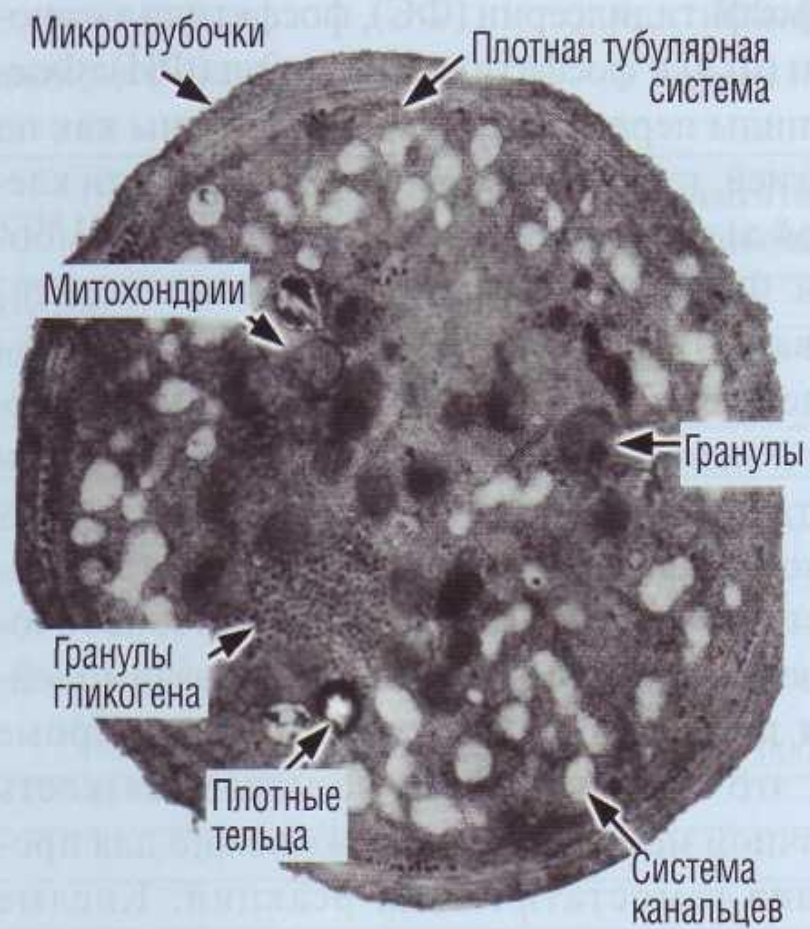
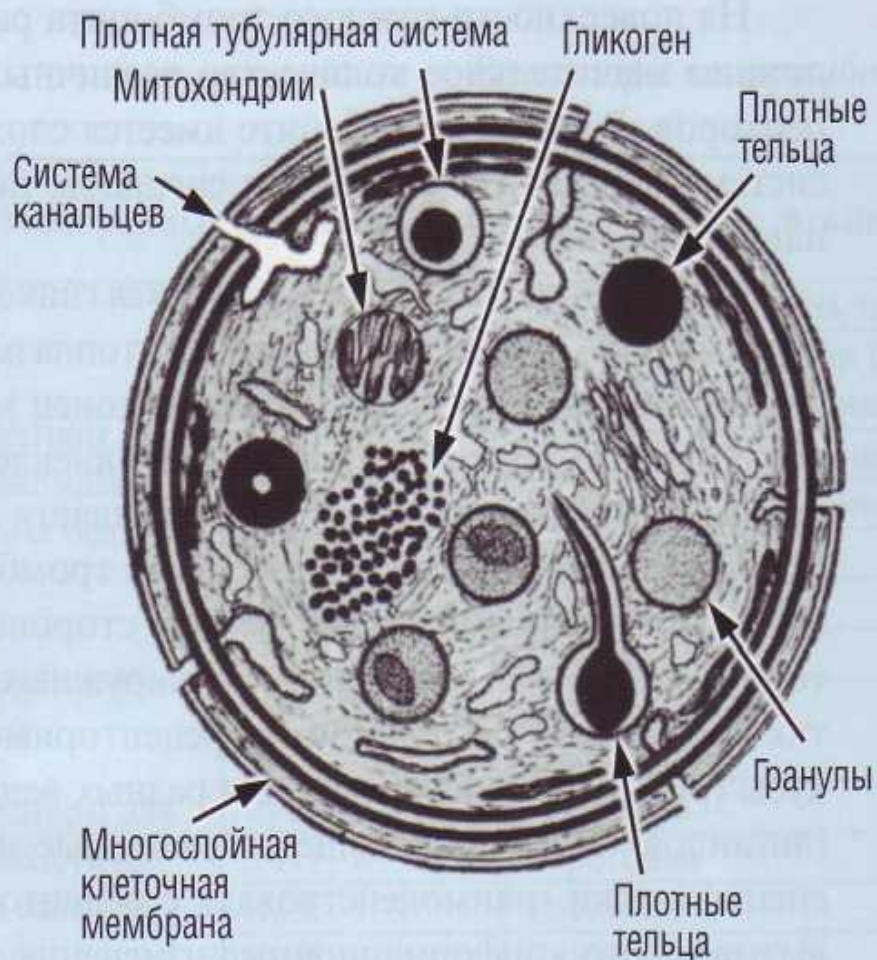




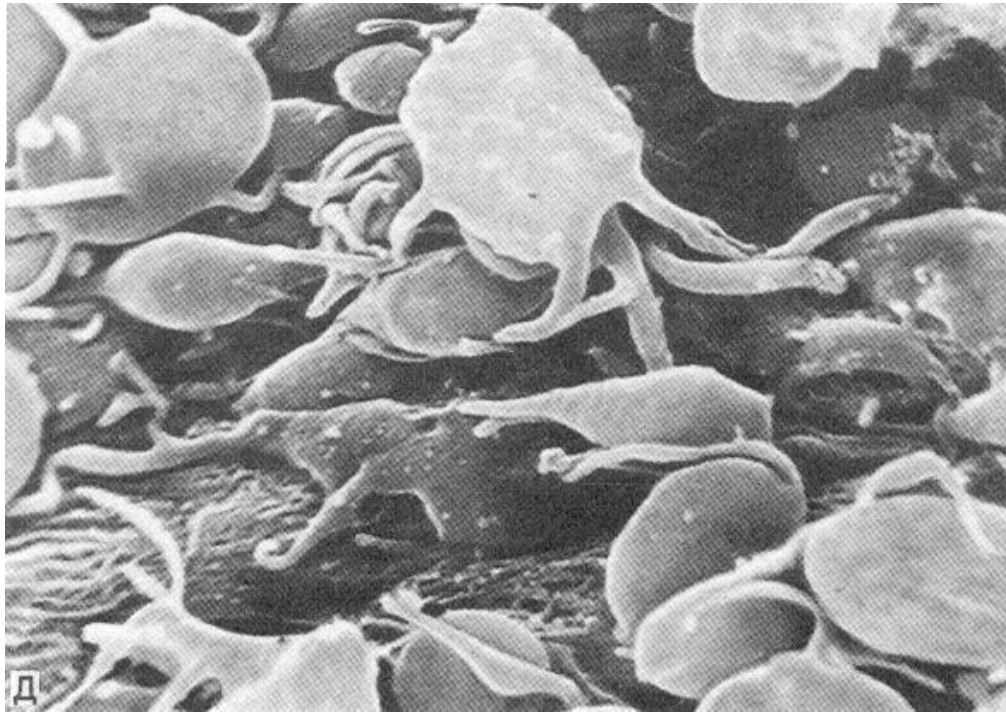
**Поверхностные гликопротеиновые (GP) рецепторы тромбоцита.** На наружных частях молекул гликопротеинов располагаются рецепторные локусы. После соединения их с лигандами создается сигнал активации, передающийся к внутренним частям тромбоцитов



**Тромбиновый рецептор** тромбоцитарной мембраны имеет схожее строение с рецепторами к АДФ, адреналину, серотонину, эйкозаноидам и другим низкомолекулярным соединениям. За счет нескольких петель имеет многофункциональный характер. Внутриклеточный **С-конец взаимодействует с цАМФ-зависимой протеинкиназой**, гидрофильные петли рецептора активируют опосредуемые G-белками внутриклеточные функциональные перестройки. Со стороны **N-конца тромбин вызывает частичный протеолиз** и тем самым активирует рецептор.

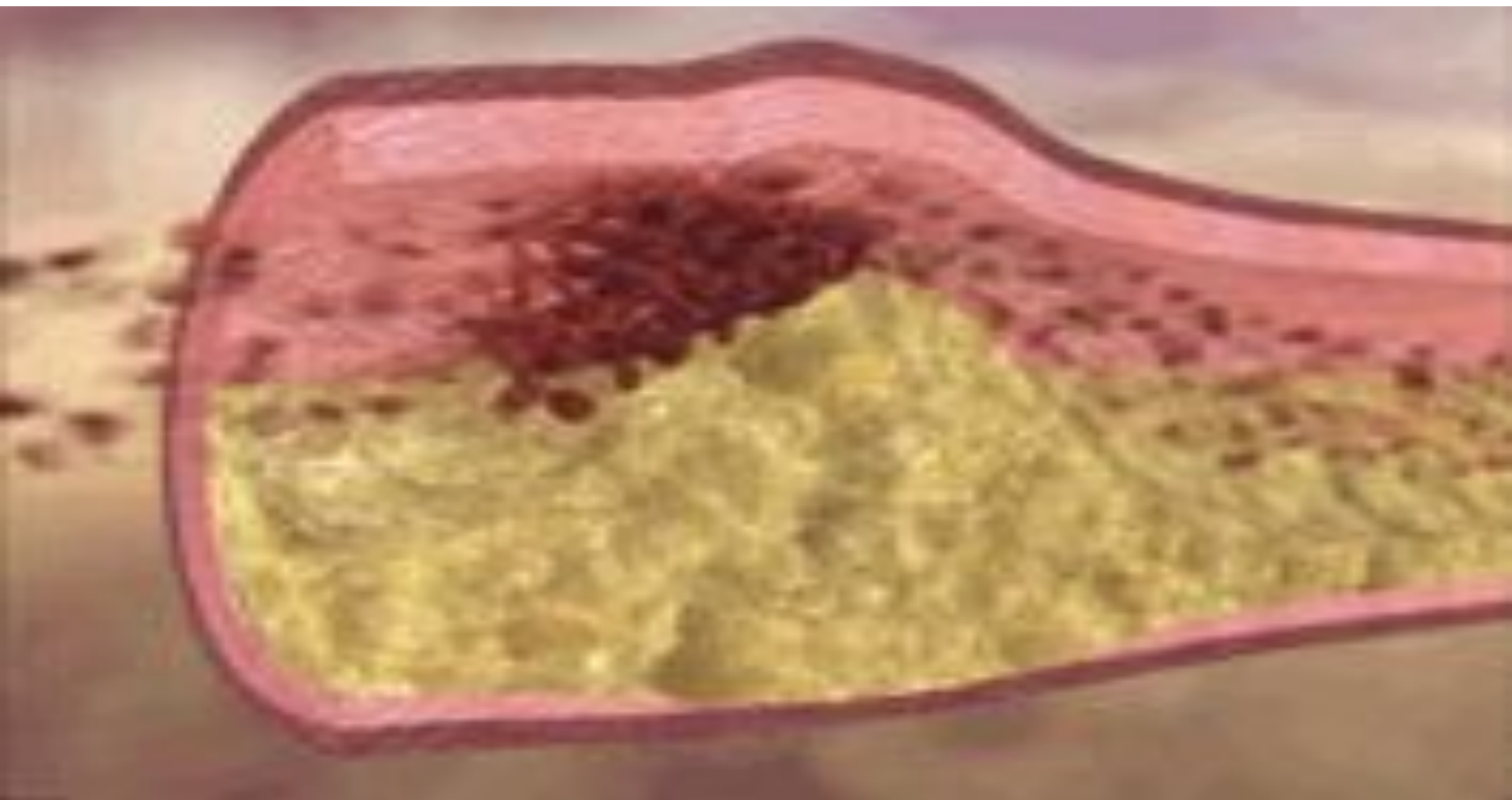


Процесс свертывания крови в целом, и первичный гемостаз в частности, инициируется повреждением сосудистой стенки. При этом создается контактная поверхность, которая активирует тромбоциты. После активации происходит адгезия тромбоцитов к краям поврежденного сосуда, его миофибриллам, коллагеновым и эластиновым волокнам.



*Адгезия тромбоцита на поверхности эндотелия*





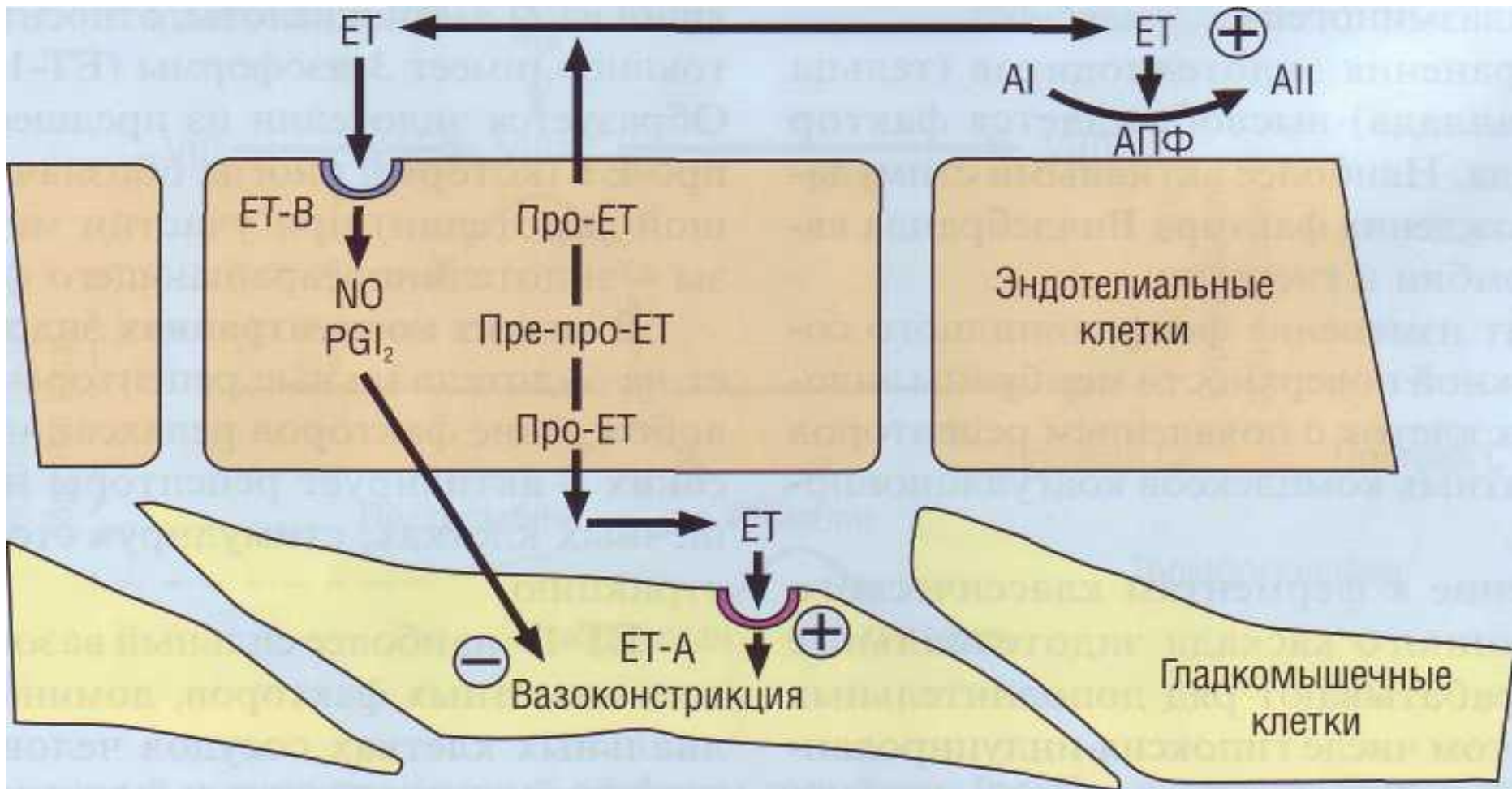
## **Функции эндотелия сосудов**

**Неповреждённый эндотелий интактен благодаря:**

- наличие Z - потенциала;**
- синтезу и фиксации различных БАВ, создающих и поддерживающих его антитромбогенность**
  - а) простациклин  $\text{Pgi}_2$  - дезагрегирующая эндоперекись;**
  - б) оксид азота - NO**
  - в) комплекс антитромбин III + гепарин**
  - г) ТАП - тканевый активатор плазминогена**
  - д) TFPI - ингибитор тканевого пути свёртывания**

# *Продукты эндотелиоцитов, участвующие в гемостазе*

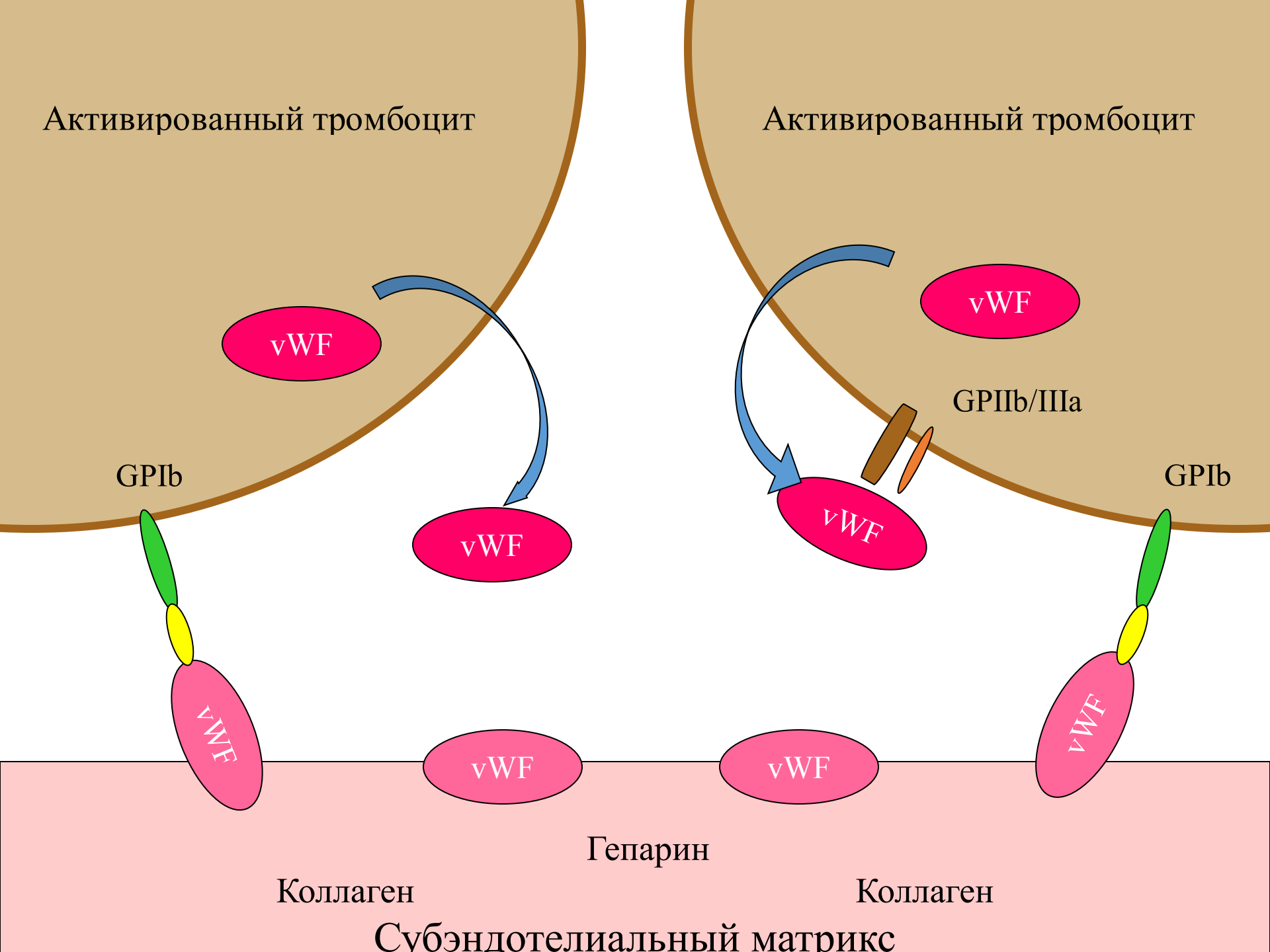
<b>Антикоагулянты</b>	<b>Прокоагулянты</b>
Гепарансульфат	Тканевый фактор
Тромбомодулин	Ингибитор ТАП 1 типа (РАI-1)
Аденозиндифосфатаза	Фактор Вилебранда
Оксид азота	Рецептор для фактора Ха
Тканевый активатор плазминогена	Коллаген IV (рецептор для фактора IXi)
Ингибитор пути тканевого фактора	Эндотелиальный рецептор протеина С
Аннексин II Аннексин V	Липополисахарид - индуцированный активатор протромбина
Протеин S Эндотелий - продуцируемый фактор релаксации Простациклины (ПГВ <sub>2</sub> , ПГЕ <sub>2</sub> )	Индуцированный гипоксией активатор фактора X



**Эндотелин - основной вазоконстриктор сосудистой стенки, вырабатывается и реализуется сосудистым эндотелием. ET – эндотелин, AI и AII - ангиотензин I и II, АПФ - ангиотензинпревращающий фермент, ET-A и ET-B - рецепторы к эндотелину**

Активированный тромбоцит

Активированный тромбоцит



GPIb

vWF

vWF

vWF

GPIIb/IIIa

GPIb

vWF

vWF

vWF

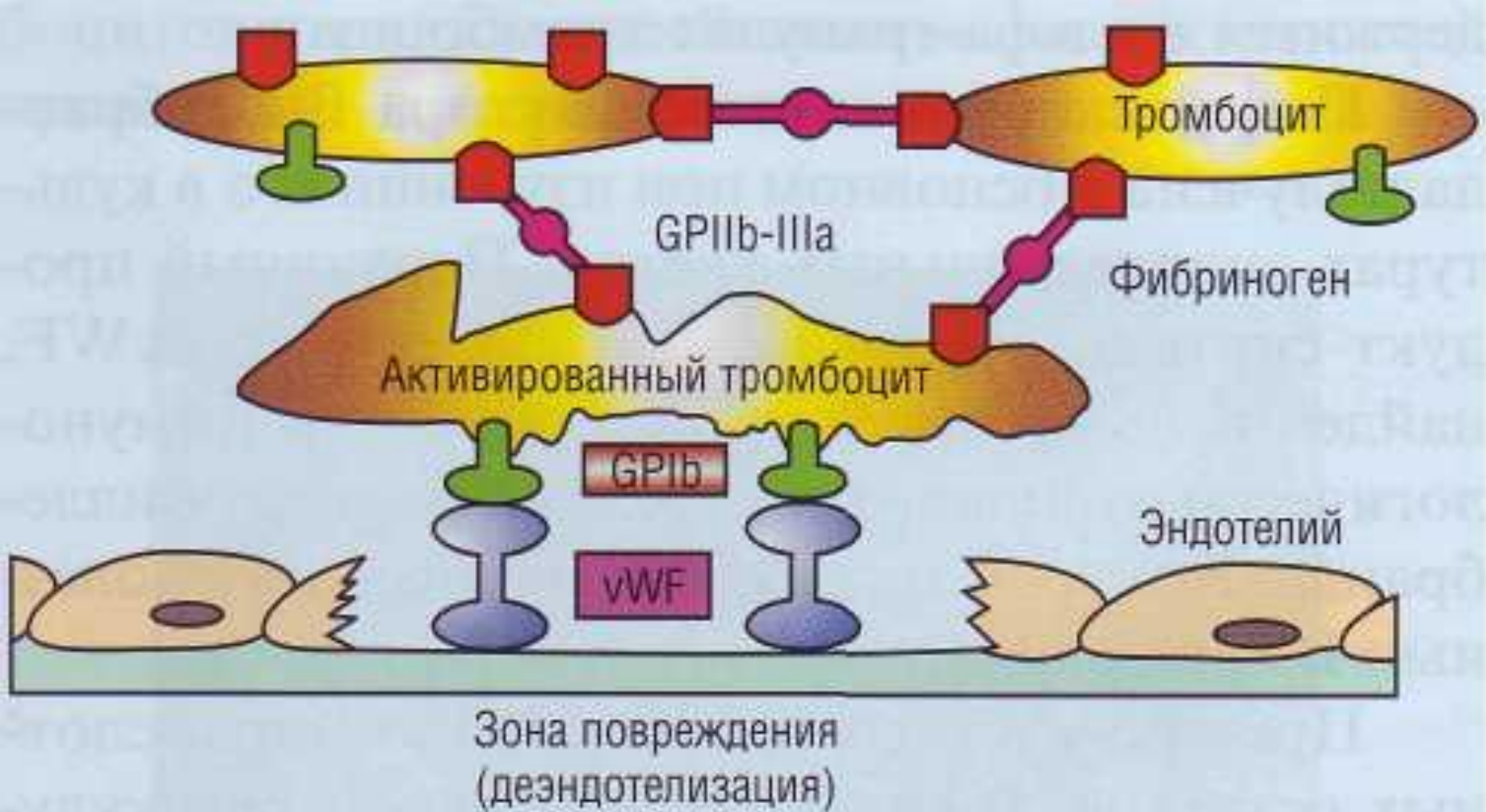
vWF

Гепарин

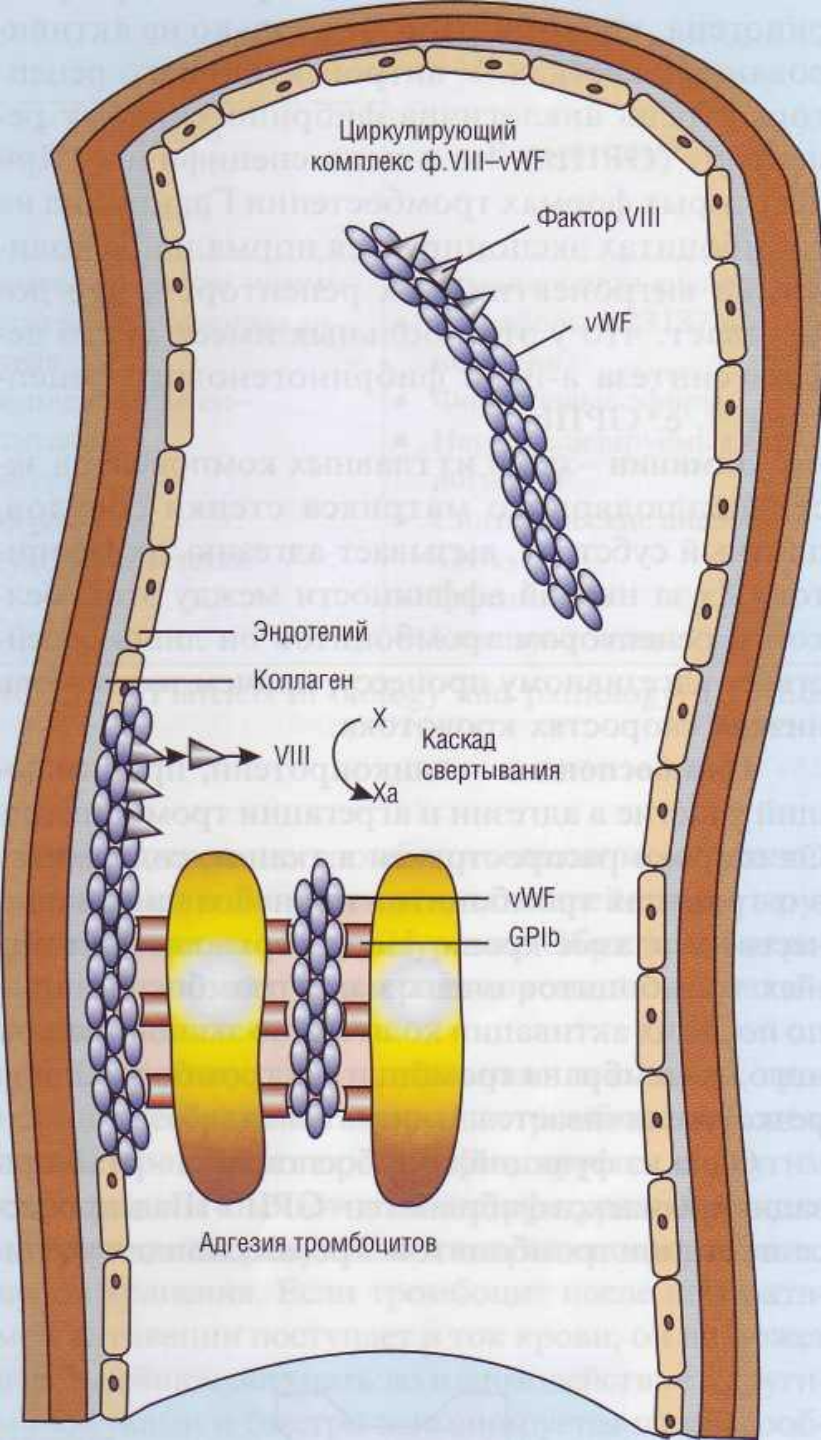
Коллаген

Коллаген

Субэндотелиальный матрикс



**Фактор Виллебранда (vWF)** выполняет роль «биологического клея», прикрепляя к коллагену субэндотелия адгезированные тромбоциты через гликопротеиновый комплекс GPIb-V-IX. Тромб увеличивается в размерах по мере адгезии и агрегации новых тромбоцитов, скрепление которых в агрегат обеспечивает фибриноген, имеющий бивалентную структуру и взаимодействующий с рецепторами GPIIb-IIIa



**Комплекс фактор VIII - фактор Виллебранда (ф. VIII—vWF)** состоит из 2 отдельных белков, которые выполняют в гемостазе разные функции, имеют разную химическую и иммунологическую структуру. Фактор VIII необходим для активации фактора X в каскаде свертывания крови, его дефицит вызывает гемофилию А. Фактор Виллебранда (vWF) - полимерный белок, который составляет основную массу комплекса. Он необходим для адгезии тромбоцитов к поврежденной стенке сосудов, обеспечивая взаимодействие коллагена с гликопротеиновым комплексом тромбоцитов GPIb-V-IX. Кроме того, он участвует в агрегации тромбоцитов, взаимодействуя с интегринами GPIIb-IIIa. Недостаток vWF приводит к болезни Виллебранда

Коллаген

Тромбин

АДФ

Серотонин

Высвобождение  $\text{Ca}^{+2}$   
в системы плотных  
каналцев

Активация фосфо-

2

Высвобождение  
арахидоновых  
кислот  
из мембранных ФЛ

циклооксигеназа

$\text{PGG}_2$  -  $\text{PGH}_2$

тромбоксансинтетаза

Тромбоксан  $\text{A}_2$

Агрегация (необр.)

Секреция



Коллаген

Тромбин

АДФ

Серотонин

Высвобождение  $\text{Ca}^{+2}$   
в системы плотных  
канальцев

$\text{Ca}^{+2}$

Активация легких

Фосфорилирование

Взаимодействием

Сокращение  
тромбоцитов

Ретракция

Простациклин эндотелия

Аденилатциклаза

АТФ

цАМФ

Протеинкиназа (n)

ПК (α)

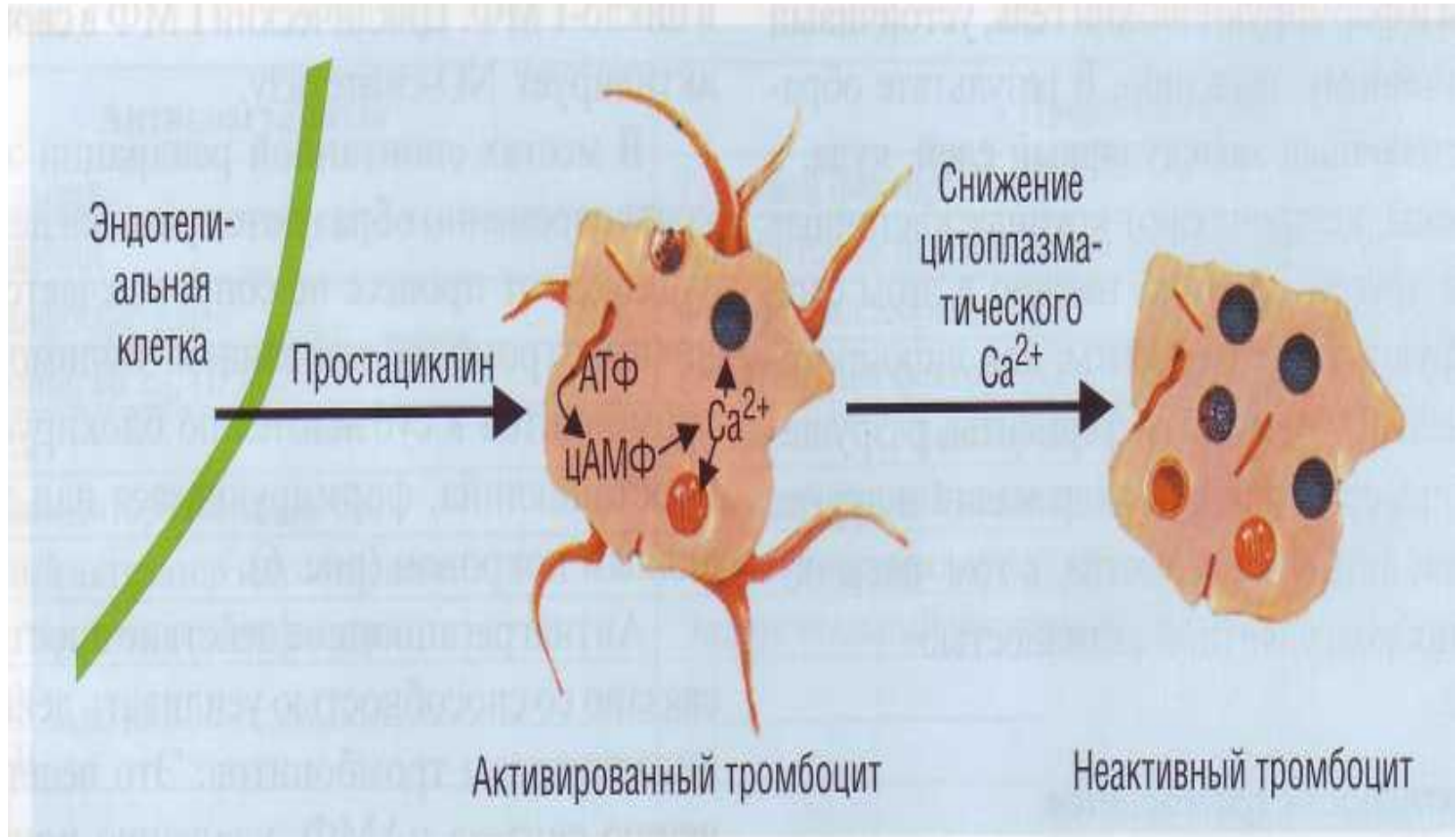
Активация киназы  
фосфорилазы – В

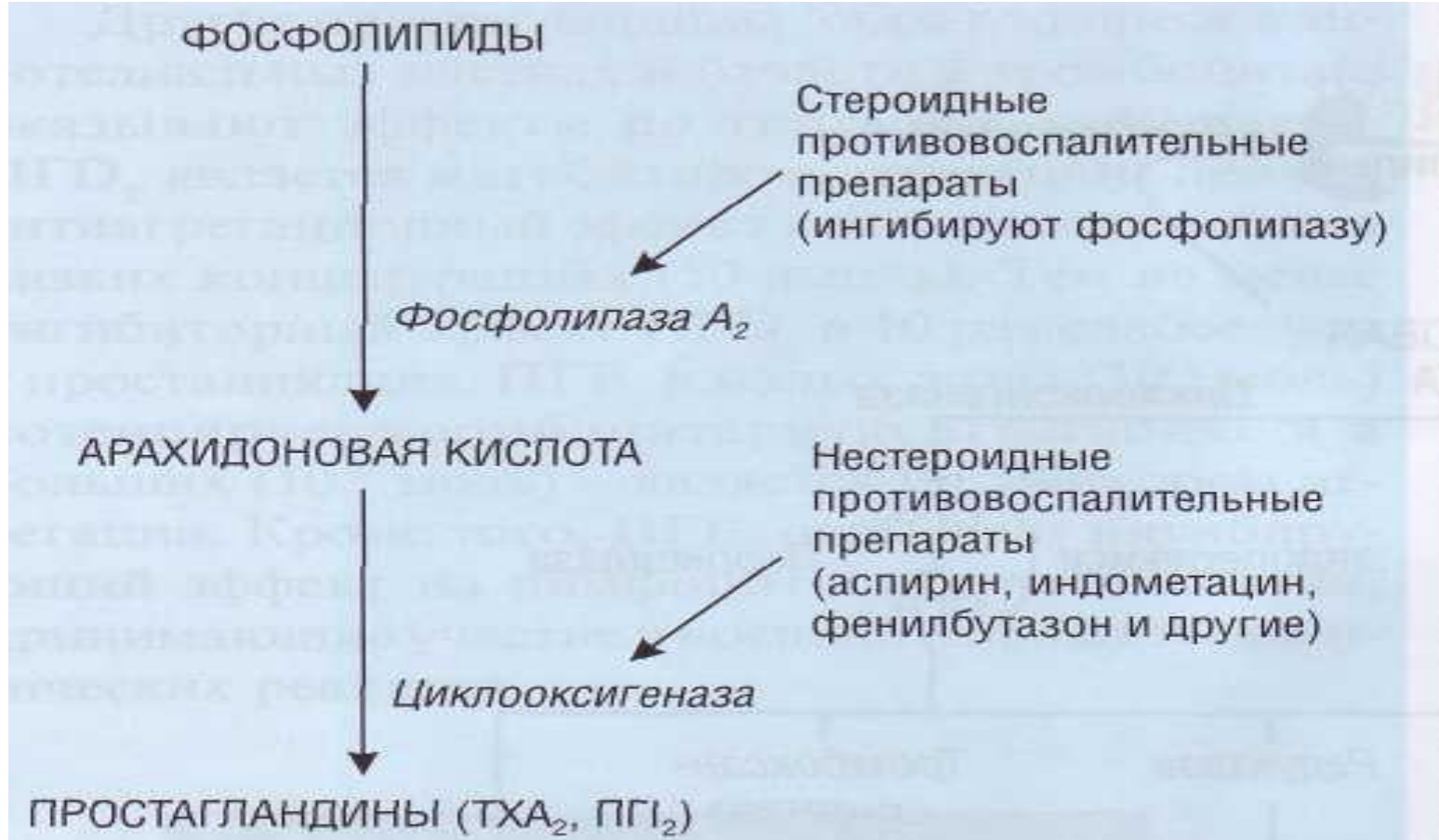
Связывания  $Ca^{+2}$  фосфо-  
рилированными белками

Восстановление запасов  $Ca^{+2}$   
в сис-ме плотных канальцев

Инактивация тромбоцитов

# Эндотелий ингибирует активацию тромбоцитов за счет выработки простаглицина





**Механизм влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на ферменты каскада образования тромбосана и простациклина.** Стероиды, подавляя активность фосфолипаз, угнетают образование широкого спектра медиаторов воспаления и продуктов каскада арахидоновой кислоты, Ацетилсалициловая кислота и ее аналоги ингибируют циклооксигеназу: в малых дозах влияют в основном на тромбоциты и оказывают антиагрегантный эффект, а в высоких концентрациях подавляют образование простациклина в эндотелии и оказывают проагрегантное действие

# КОМПОНЕНТЫ ГРАНУЛ ТРОМБОЦИТОВ

## Плотные гранулы ( $\delta$ )

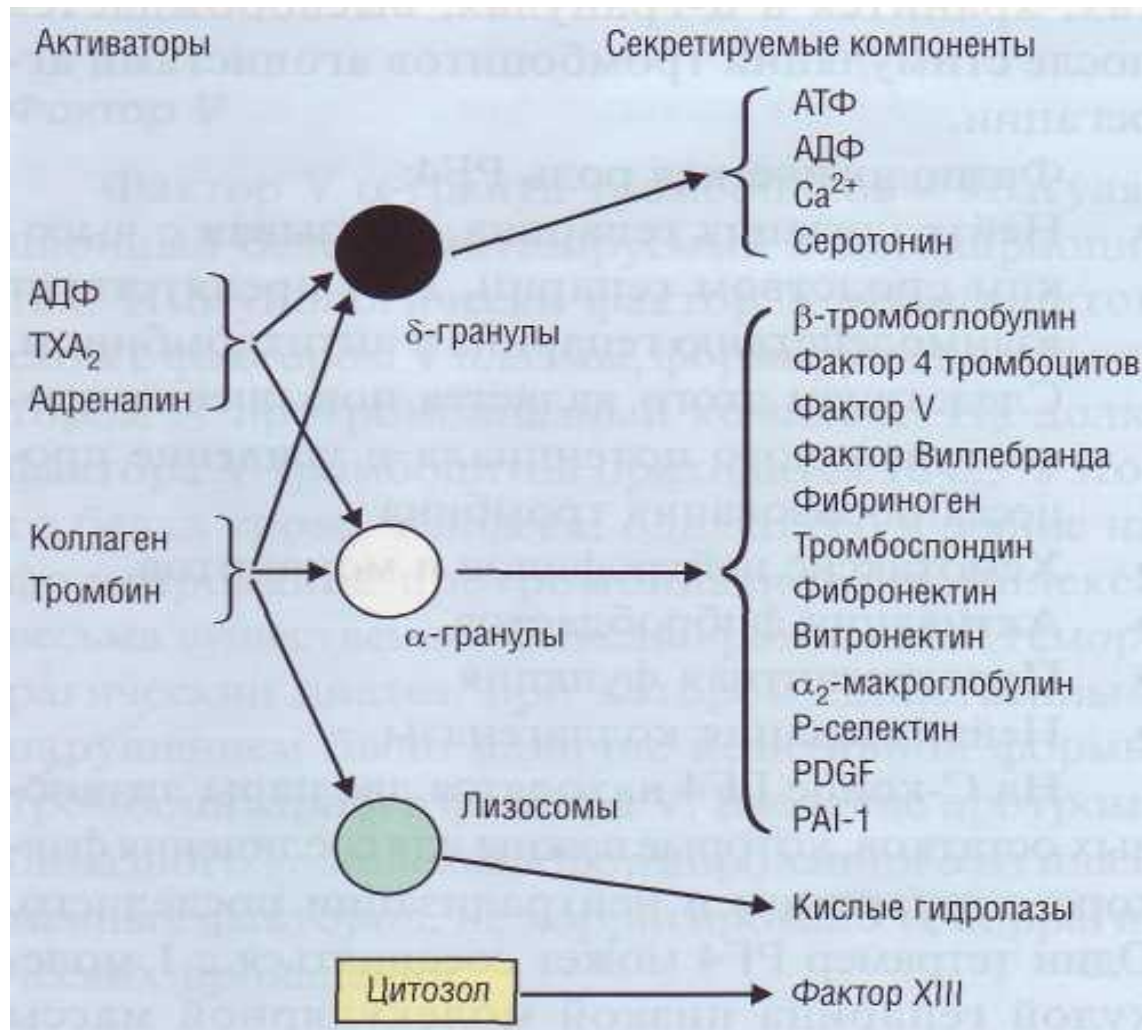
1. АДФ
2. АТФ
3.  $\text{Ca}^{+2}$
4.  $\text{Mg}^{+2}$
5. Серотонин
6. Адреналин
7. Норадреналин
8. Антиплазмин
9. Гистамин
10. Дофамин
11. РРнн
12. ГТФ, ЦТФ, УТФ
13. Эпинефрин

## $\alpha$ -

1. Гранулы  $\text{P}_4$ -антигепариновый
2. ТФР-тромбоцитарный
3.  $\beta$ -тромбоглобулин
4. Фибриноген
5. Vф-проакцелерин
6. VIII-Ag, VIII:
7. ФибронектинАС
8. Тромбоспондин
9. Витронектин

## Лизосомы ( $\gamma$ -

1. Кислые гидролазы
2.  $\beta$ -глюкуронидаза
3.  $\beta$ -N-ацетилглю-козамидаза
4.  $\beta$ -галактозидаза
5. гиалуронидаза



**Секретируемые факторы тромбоцитов** присутствуют в тромбоцитах в 3 видах гранул хранения. Разные стимуляторы приводят к освобождению содержимого гранул тромбоцитов



агонисты

слабые агонисты

СИЛЬНЫЕ

связываются со своими рецепторами на (коллаген, тромбин)

тромбоцитарной мембране

ТхА2, тромбин (малые дозы), АДФ,

серотонин)



Активация ФлС

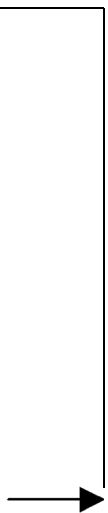
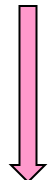
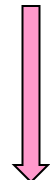
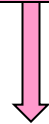
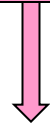
Высвобождение  $Ca^{+2}$  из системы плотных гранул

А  
Д  
Г  
Е  
З  
И  
Я

Т

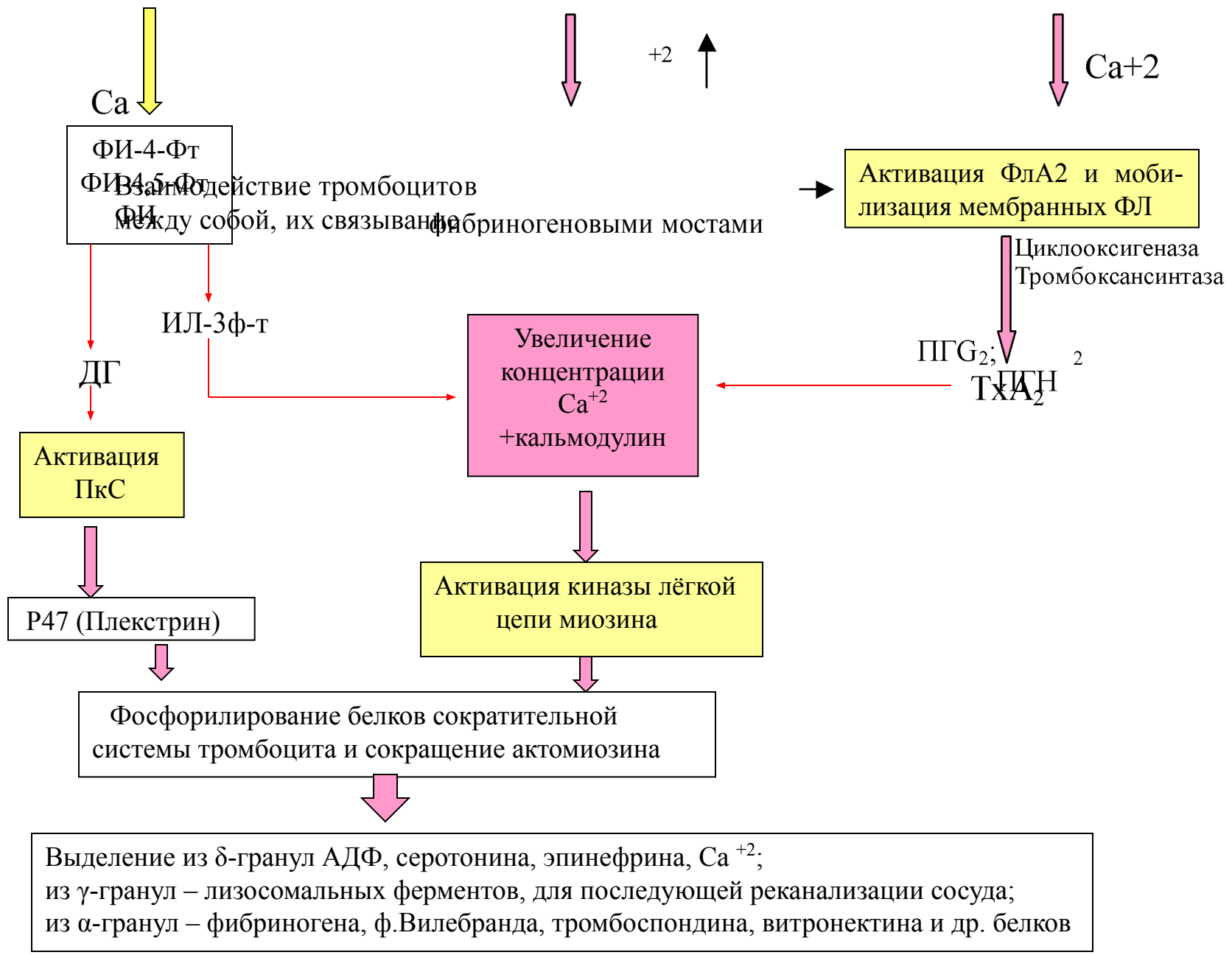
Доступность рецептора тромбоцитов IIb-IIIa для фибриногена

Мобилизация мембранных фосфолипидов тромбоцита ФС, ФХ, ФЭ



О  
Б  
Р  
А  
Т  
И  
М  
А  
Я  
  
А  
Г  
Г  
Р  
Е  
Г  
А  
Ц  
И  
Я

Секреция и необратимая агрегация



Ретракция тромбоцитарного тромба, армирование фибрином.

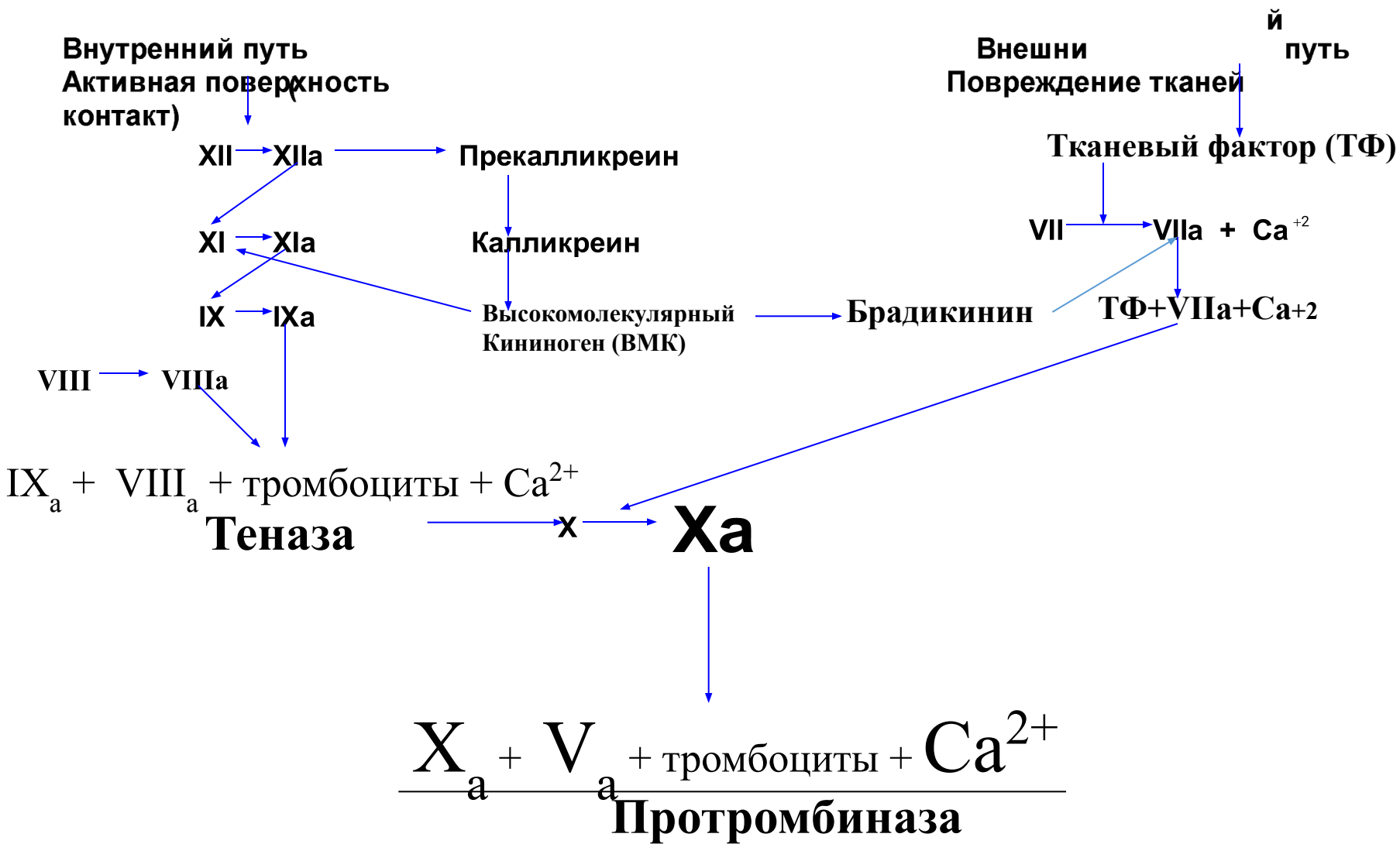


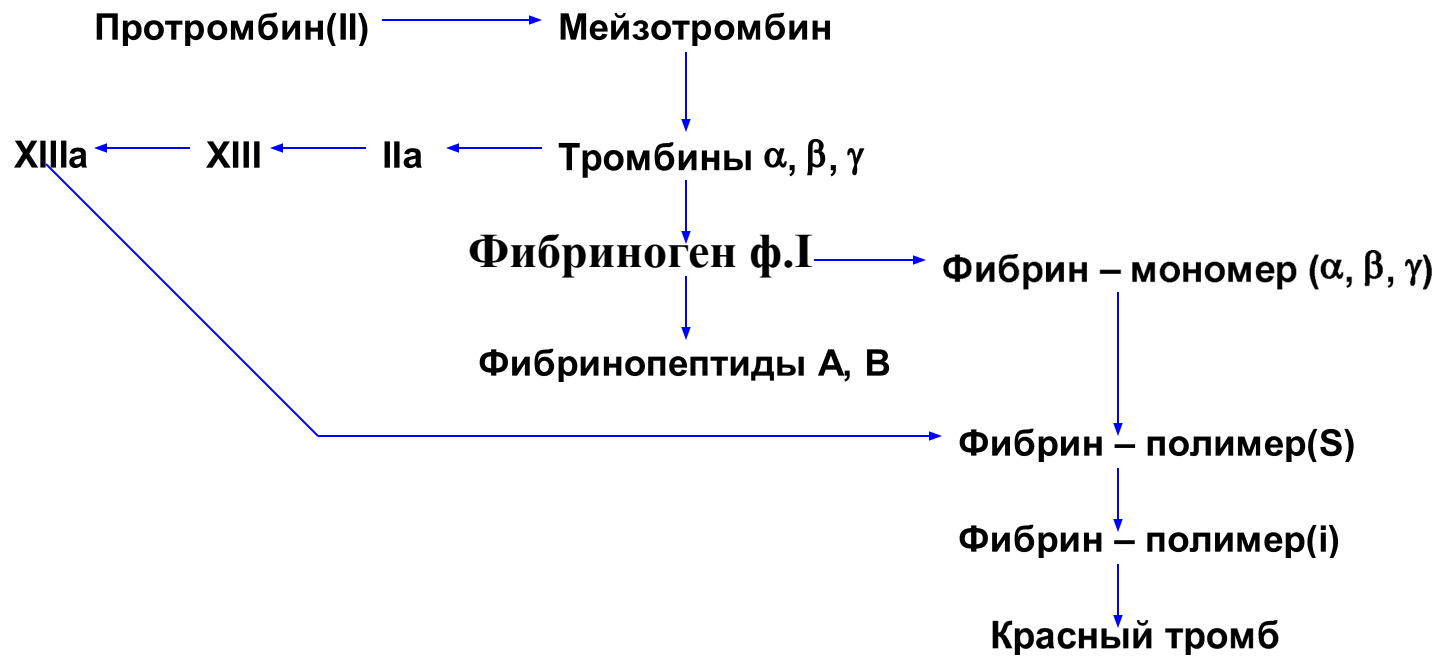
# ПЛАЗМЕННО-КОАГУЛЯЦИОННЫЙ (ВТОРИЧНЫЙ) ГЕМОСТАЗ

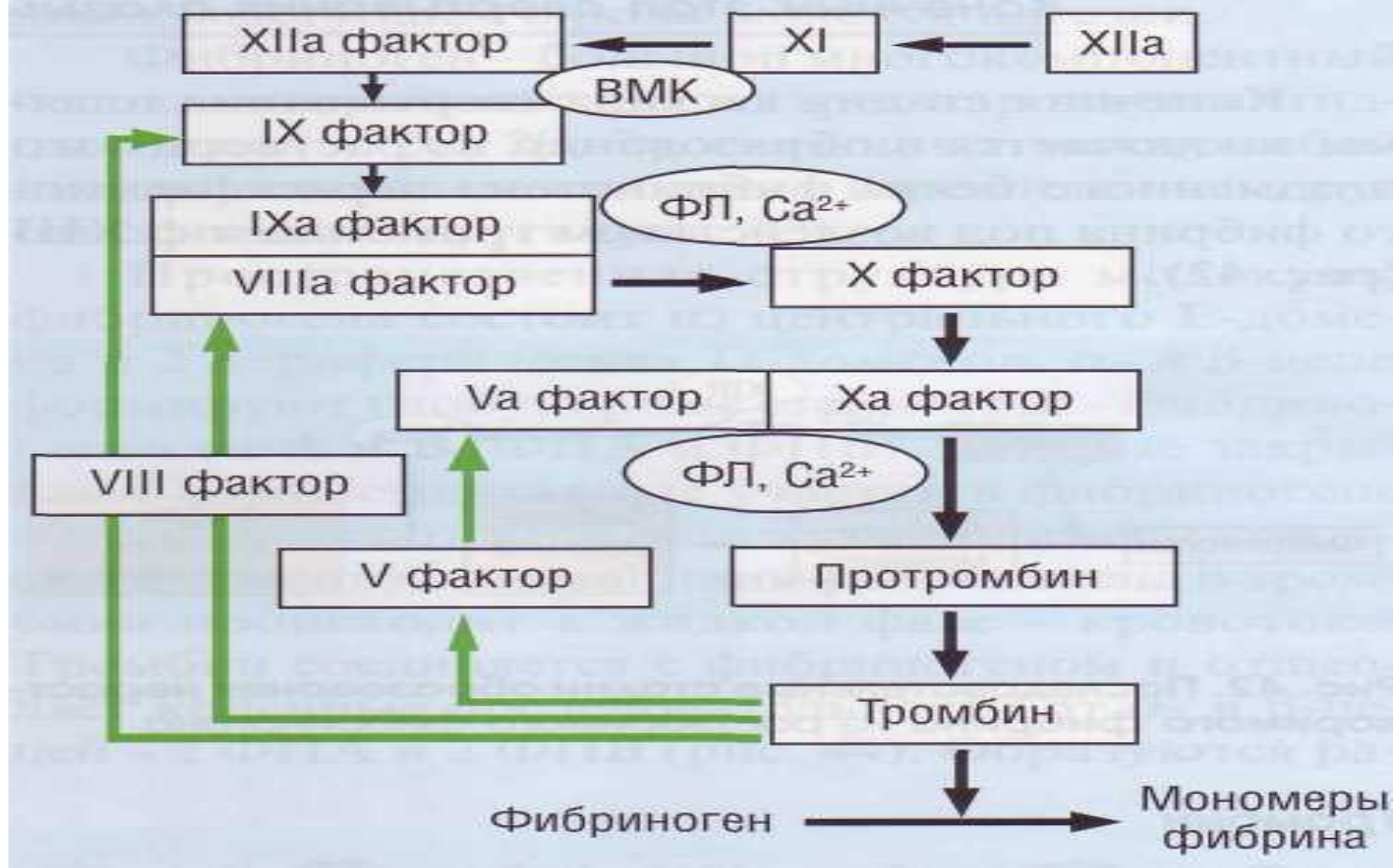
**Процесс плазменно-коагуляционного гемостаза протекает в три стадии:**

- 1. Образование протромбиназы (внутренний и внешний пути)**
- 2. Образование тромбина**
- 3. Образование фибрина**

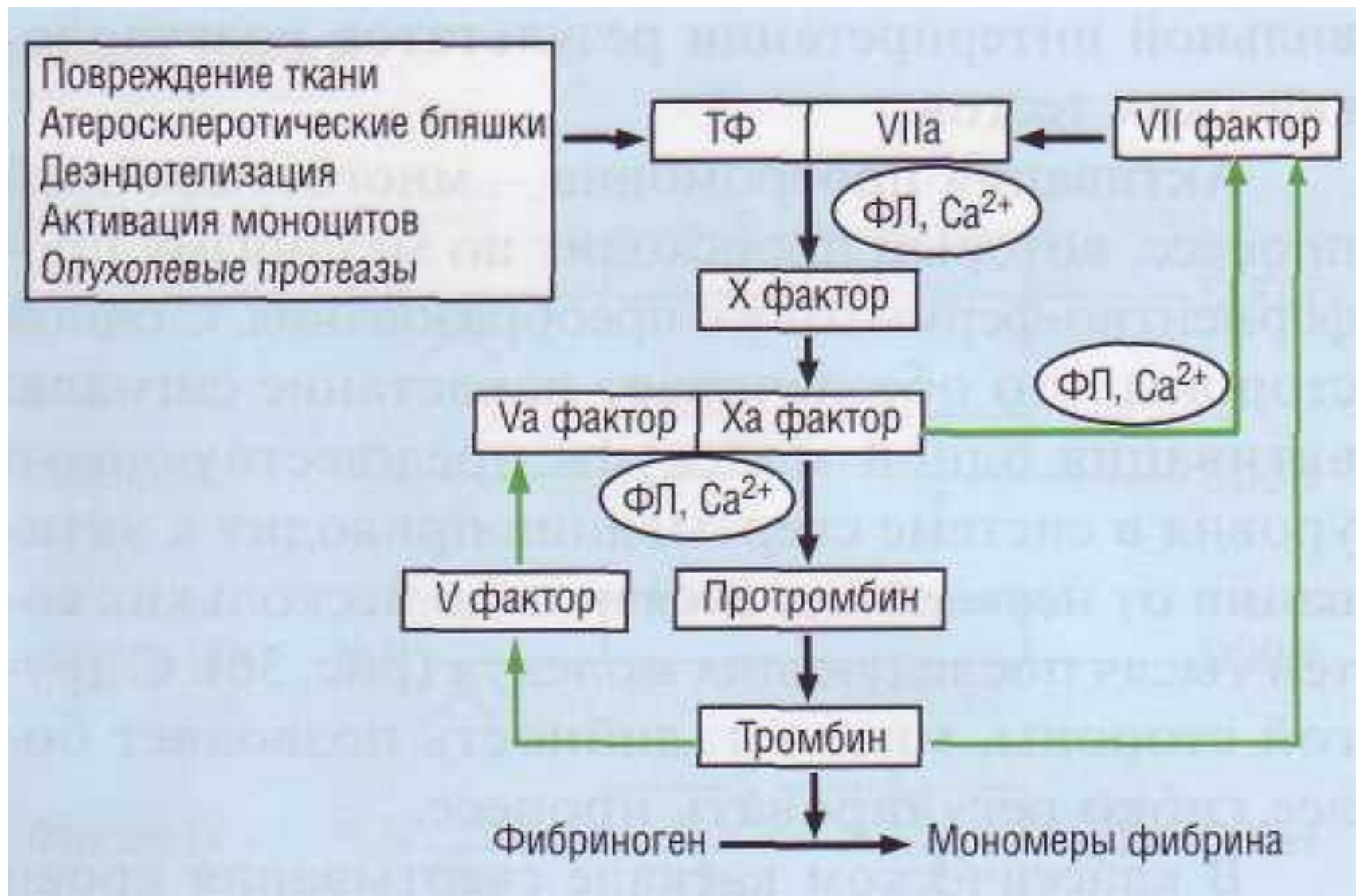
# Схема свертывания крови







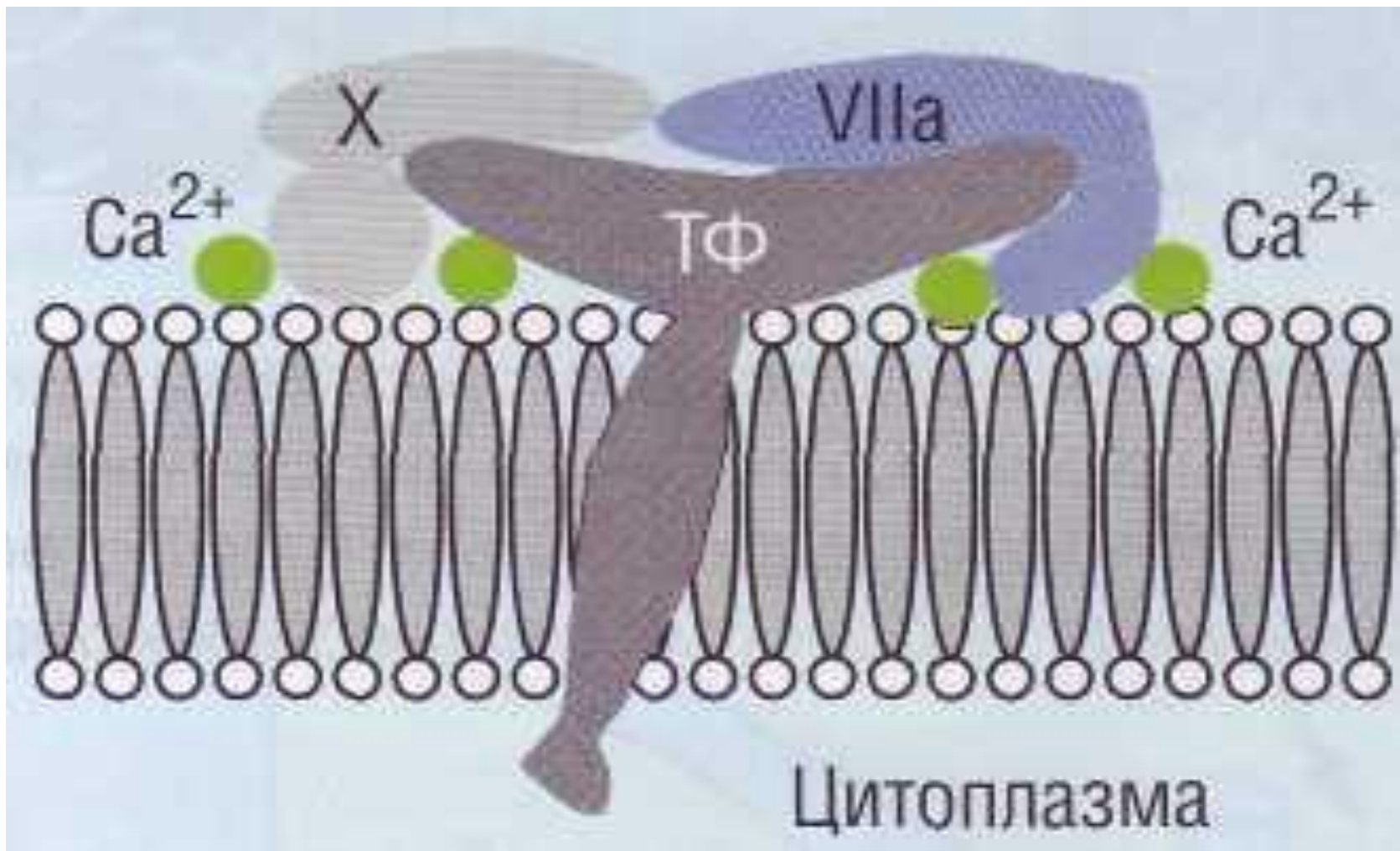
**Внутренний каскад активации плазменного гемостаза.** Начинается с взаимной активации контактных факторов системы гемостаза, Фактор XIIa переводит фактор XI в XIa. Фактор XIa активирует фактор IX. Все последующие этапы активации свертывания по внутреннему пути требуют ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и зависят от присутствия фосфолипидов. Фактор IXa активирует фактор X, но эта реакция не очень эффективная. Однако появившийся тромбин активирует фактор VIII. Активный фактор VIIIa вместе с фактором IXa, ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфолипидами очень эффективно активирует фактор Xa, Обратная связь поддерживает развитие процесса за счет активации тромбином ф. VIII, -IX и -V



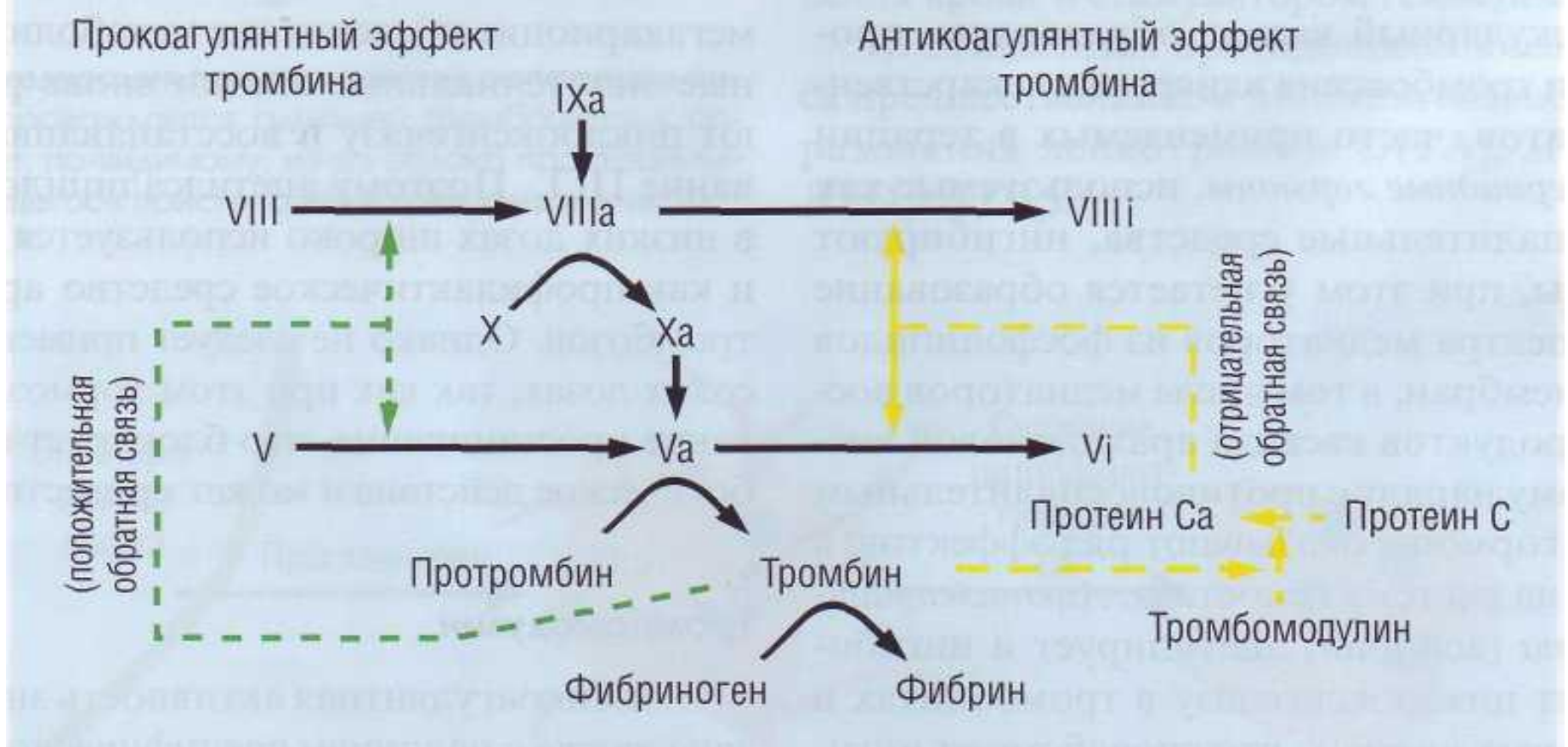
**Внешний каскад свертывания крови.** Начинается с контакта крови с тканевым фактором (ТФ), который, взаимодействуя с ф. VIIa, образует комплекс, активирующий ф. X. Усиление активности внешнего каскада свертывания крови обеспечивается 2 механизмами положительной обратной связи

# Плазменные факторы свертывания крови

Символ фактора	Название	Время полужизни (ч)	Концентрация в плазме (нмоль/л)	Гемостатический минимум	Зависимость от витамина К
I	Фибриноген	64–96	8800 (2–4 г/л)	0,5–1,0 г/л	–
II	Протромбин	48	1400 (100–150 мг/л)	40%	+
V	Проакцелерин	12	20 (7–10 мг/л)	10–15%	–
VII	Проконвертин	4–6	10 (0,4–0 мг/л)	5–10%	+
VIII	Антигемофильный глобулин А	15–20	0,7 (зависит от группы крови)	30–35%	–
IX	Антигемофильный фактор В	24	90 (3–5 мг/л)	20–30%	+
X	Фактор Стюарта–Прауэра	32	170 (8–10 мг/л)	10–20%	+
XI	Антигемофильный глобулин С, фактор Розенталя	60–80	30 (3–6 мг/л)	10–20%	–
XII	Фактор Хагемана	50–70	400 (25–35 мг/л)	<1%	–
XIII	Фибрин-стабилизирующий фактор, трансглутаминаза	40–50	50 (20–30 мг/л)	2–3%	–
ПК	Прекалликреин (фактор Флетчера)		30–50 мг/л	<1%	–
ВМК	Высокомолекулярный кининоген (фактор Фитцджеральда)		60–80 мг/л	<1%	–



**Формирование активного комплекса внешнего пути активации свертывания на тканевом факторе, ТФ -тканевой фактор, VIIa - активный фактор VII свертывания крови (протеолитический фермент), X - неактивный фактор свертывания крови (субстрат)**



**Прокоагулянтный и антикоагулянтный эффекты тромбина.** Тромбин оказывает прямой активирующий эффект на факторы V и VIII и инактивирующее действие на факторы Va и VIIIa. Фактор VIII может быть активирован высокими концентрациями фактора IXa или следовыми концентрациями тромбина. В то же время тромбин в комплексе с тромбомодулином стимулирует антикоагулянтный эффект протеина С. Эти формы регуляции существенны для эффективного участия факторов Va и VIIIa в процессах свертывания крови



**Образование нерастворимого фибрина** под влиянием фактора XIIIa (ε-лизил-γ-глутамил аминоксилтрансфераза) - фибриназа



# ПРОТИВОСВЁРТЫВАЮЩАЯ (АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ) СИСТЕМА КРОВИ.

Состоит из двух компонентов: системы антикоагулянтов и системы фибринолиза.

Функции:

- Поддержание крови в жидком состоянии
- Контроль скорости активации факторов свертывания и реакций между ними
- Устранение тромбов, выполнивших свою задачу

**Система антикоагулянтов** представлена клетками РЭС, гепатоцитами и гуморальными факторами. РЭС и гепатоциты удаляют из кровотока активированные факторы свертывания, включая фибриноген. Гуморальные факторы тормозят чрезмерную активацию процесса фибринолиза.

Естественные антикоагулянты разделяют на первичные и вторичные.

Первичные образуются в тканях и форменных элементах крови и постоянно присутствуют в плазме. Действуют независимо от того, формируется или нет фибриновый сгусток. Вторичные антикоагулянты образуются в процессе свертывания крови.

## ОСНОВНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АНТИКОАГУЛЯНТЫ

Название	Механизм действия
Антитромбин III	Ингибирует активность тромбина, факторов IXa, Xa, XI и XIIa
Гепарин	Активирует антитромбин III
Кофактор гепарина	Слабый антикоагулянт, действует в отсутствии антитромбина III
Протеин С	Инактивирует факторы VIIIa и Va. Активатор плазминогена. Активируется комплексом тромбомодулин-тромбин. Витамин К-зависимый
Протеин S	Витамин К –зависимый кофактор С
Ингибитор тканевого пути свертывания	Инактивирует Xa, в комплексе с ним инактивирует VIIa,
$\alpha_2$ - макроглобулин	Неспецифический ингибитор протеаз (IIa, плазмин, калликреин)
$\alpha_1$ - антитрипсин	Инактивирует XI
Ингибитор комплимента C <sub>1</sub>	Инактивирует калликреин и XIIa

Аббре-виатура	Вещество	Субстрат	Время полужизни	Концентрация в плазме (нмоль/л)	Активизация гепарином
ПС	Протеин С	ф.VIII, ф.V	6	65 (4 мг/л)	
PS	Протеин S (кофактор протеина С)	ф.VIII, ф.V	42	300 (25 мг/л)	
ИПВ (TFPI)	Ингибитор пути тканевого фактора	Комплекс ТФ-ф.VIIa-ф.X	Неизвестно	2,5 (0,1 мг/л)	+
АТIII	Антитромбин III	ф.IIa, -IXa, -Xa, -XIa	18-30	2400 (150 мг/л)	+
	$\alpha_2$ -макроглобулин	Неспецифический ингибитор протеаз	24-36	3500 (2,5 г/л)	
	Гепарин-кофактор II	ф.IIa	60	1200 (87 мг/л)	+
C1-Ing	C1-ингибитор	ф.XIIa, ф.XIa	50-70	1700 (180 мг/л)	
	$\alpha_1$ -ингибитор протеаз	ф.XIa	24-48	3500 (2,5 г/л)	
PAI-3	Ингибитор протеина С	Активированный протеин С, комплекс тромбин-тромбомодулин			

# Система фибринолиза

- лизис фибрина
- реканализация сосудов
- восстановление кровотока

Препятствует образованию и развитию диссеминированного тромбоза.  
Активируется одновременно с системой свёртывания и антикоагулянтов.

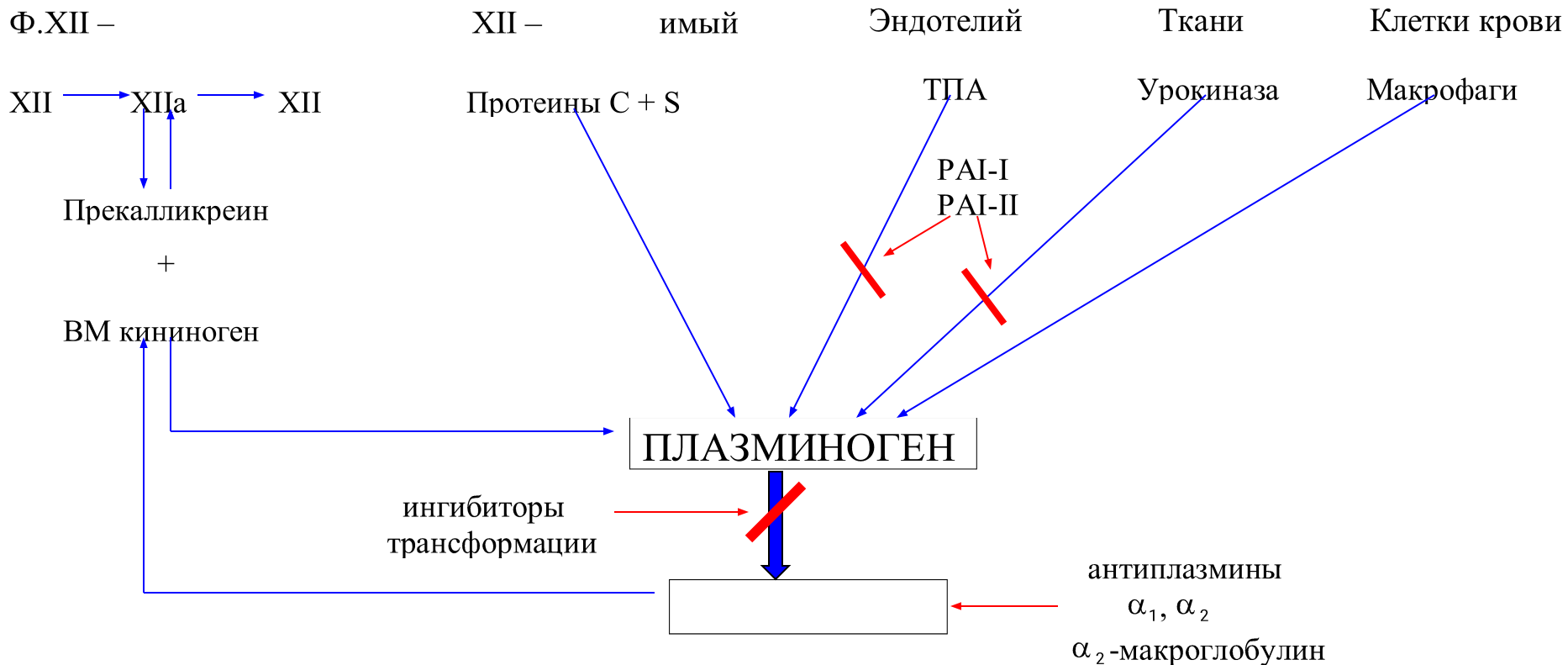
Компоненты:

1. Плазминоген, преобразующийся в плазмин
2. Активаторы плазминогена:
  - фактор XIIa + калликреин + ВМК;
  - тканевый плазминогеновый активатор (ТПА) + урокиназа;
3. Ингибиторы фибринолиза:
  - ингибиторы активаторов плазминогена (РАI-1,II)
  - $\alpha 1\alpha 2$ -антиплазмины.

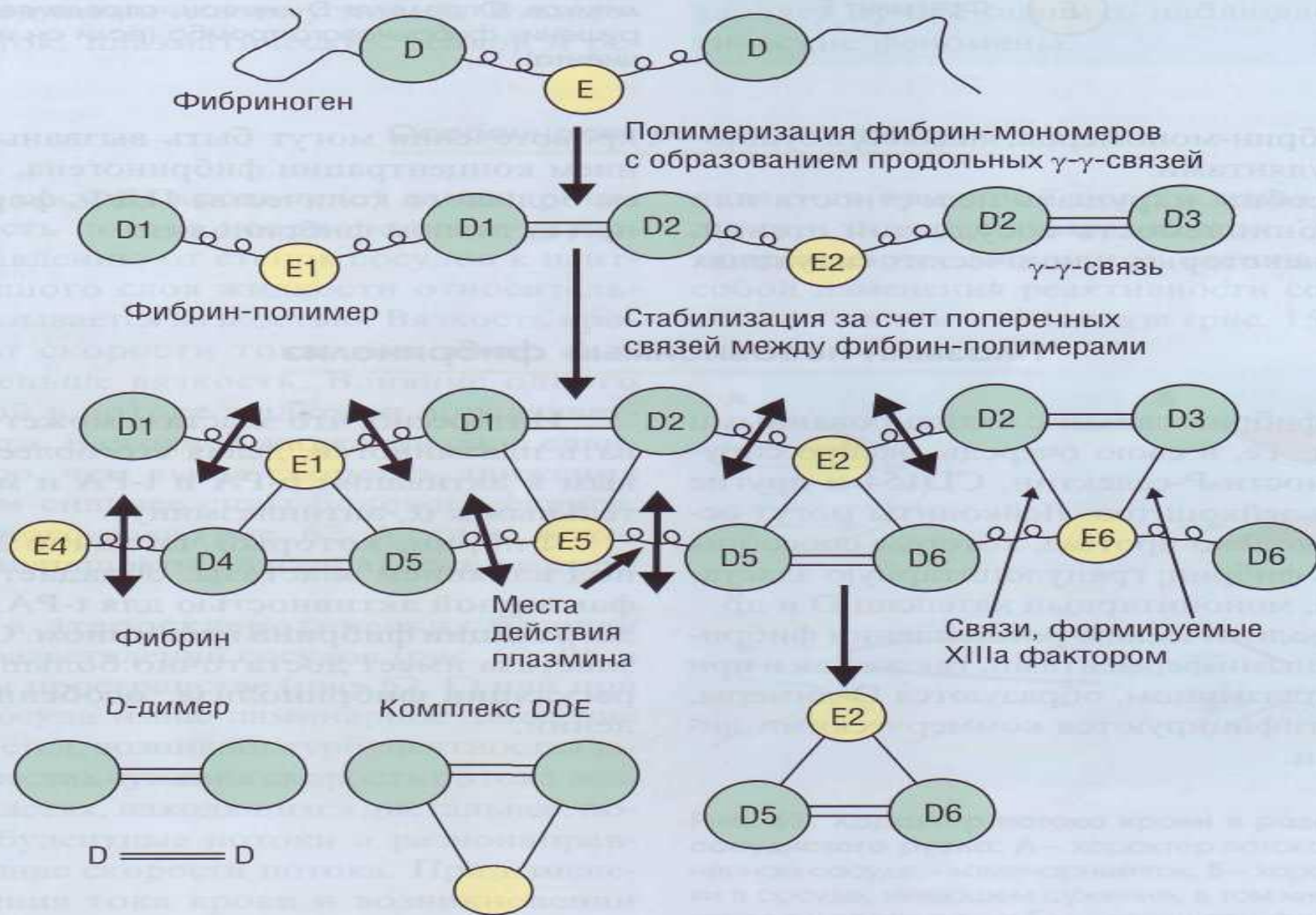
# СИСТЕМА ФИБРИНОЛИЗА

## Внешний механизм

## Внутренний механизм



# Образование фибрина из фибриногена и формирование D-димеров при деградации фибрина плазмином

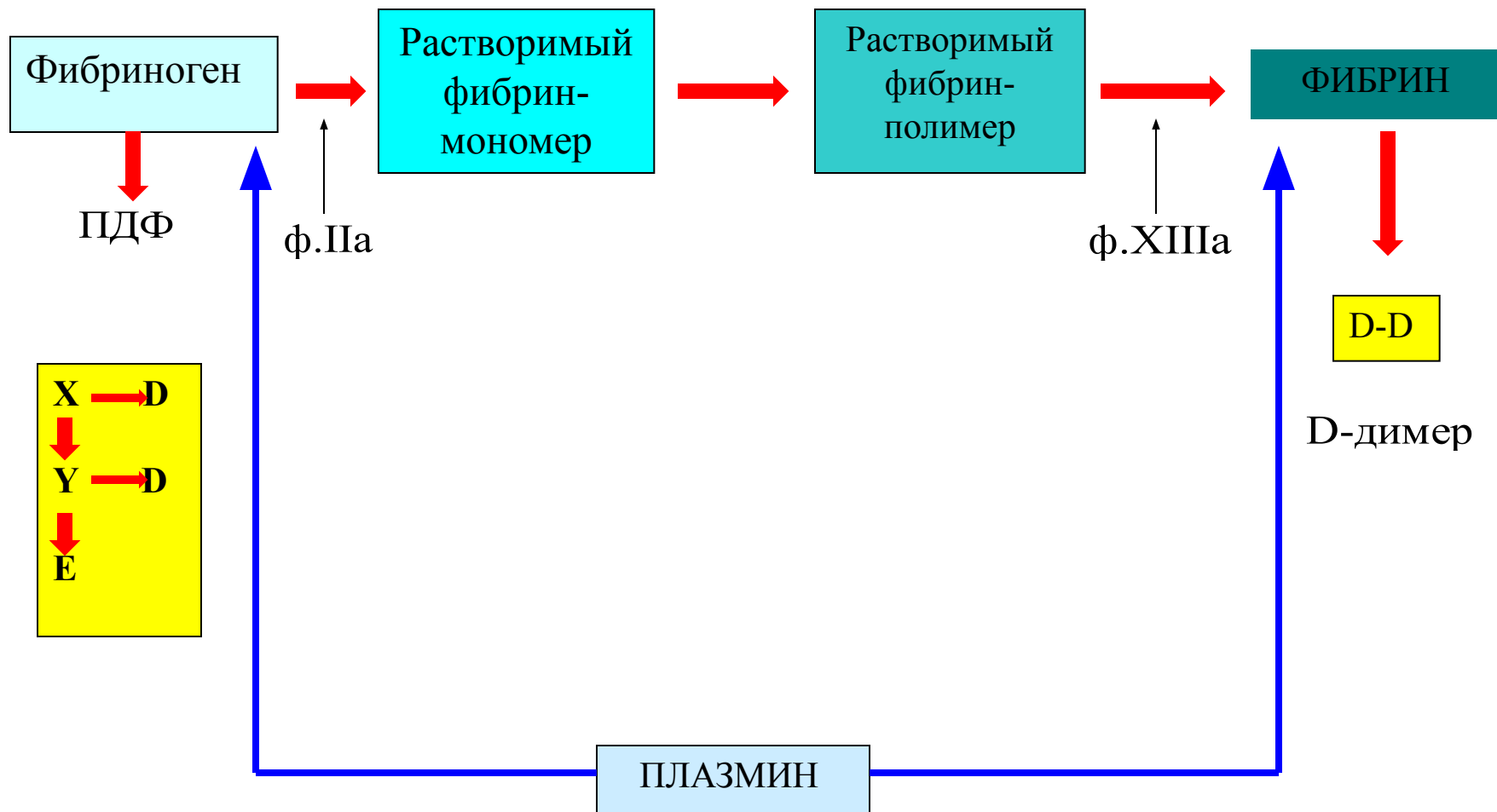


# Основные компоненты системы фибринолиза

Фактор	Концентрация (мг/л)	Период полувыведения	Функция
1	2	3	4
Плазминоген	200	2,2 дня	Профермент (предшественник плазмина)
Активатор плазминогена тканевого типа (t-РА)	0,005	4 мин	Протеаза, активирует плазминоген
Урокиназный активатор плазминогена (и-РА)	0,002	7 мин	Протеаза, активирует плазминоген
Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (РАI-1)	0,01	8 мин	Ингибитор t-РА и и-РА
Фактор XII	30	2-3 дня	Профермент. Участвует в реакции активации плазминогена
Прекалликреин	40	—	Профермент. Участвует в реакции активации плазминогена
Высокомолекулярный кининоген	70	5 дней	Кофактор. Участвует в реакции активации плазминогена



1	2	3	4
C1-ингибитор	180	70 ч	Ингибитор ф.ХПа. калликреина, плазмина
$\alpha_2$ -антиплазмин	70	3 дня	Ингибитор плазмина
$\alpha_2$ -макроглобулин	2500	—	Ингибитор плазмина. калликреина, урокиназы, t-РА и др.
Богатый гистидином гликопротеин	100	3 дня	Ингибитор плазмина
Аполипопротеин(а)	<70	-	Снижает фибринолиз
Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза	5	10 мин	Предшественник ингибитора (зимоген)
Рецептор урокиназного активатора плазминогена (u-PA)	—	—	Рецептор u-PA, модулирующий его активность
Аннексин II	—	—	Рецептор t-PA, активирующий его функцию
Рецептор LRP/ $\alpha_2$ -макроглобулина	—	—	Рецептор t-PA, способствующий его элиминации
Рецептор маннозы	—	—	Рецептор t-PA, способствующий его элиминации



Символ фактора	Название	Время полужизни (ч)	Концентрация в плазме (нмоль/л)	Гемостатический минимум	Зависимость от витамина К
I	Фибриноген	64–96	8800 (2–4 г/л)	0,5–1,0 г/л	–
II	Протромбин	48	1400 (100–150 мг/л)	40%	+
V	Проакцелерин	12	20 (7–10 мг/л)	10–15%	–
VII	Проконвертин	4–6	10 (0,4–0 мг/л)	5–10%	+
VIII	Антигемофильный глобулин А	15–20	0,7 (зависит от группы крови)	30–35%	–
IX	Антигемофильный фактор В	24	90 (3–5 мг/л)	20–30%	+
X	Фактор Стюарта–Прауэра	32	170 (8–10 мг/л)	10–20%	+
XI	Антигемофильный глобулин С, фактор Розенталя	60–80	30 (3–6 мг/л)	10–20%	–
XII	Фактор Хагемана	50–70	400 (25–35 мг/л)	<1%	–
XIII	Фибрин-стабилизирующий фактор, трансглутаминаза	40–50	50 (20–30 мг/л)	2–3%	–
ПК	Прекалликреин (фактор Флетчера)		30–50 мг/л	<1%	–
ВМК	Высокомолекулярный кининоген (фактор Фитцджеральда)		60–80 мг/л	<1%	–

Виллебранда. пенетрантностью, с аутосом-  
но-доминантным типом передачи. Характеризуется снижением или отсутствием в плазме фактора Виллебранда - белка-носителя антигемофильного глобулина (ф. VIII-AC). Тромбоциты при помощи фактора Виллебранда адгезируются к краям раны в местах с высокой скоростью кровотока.

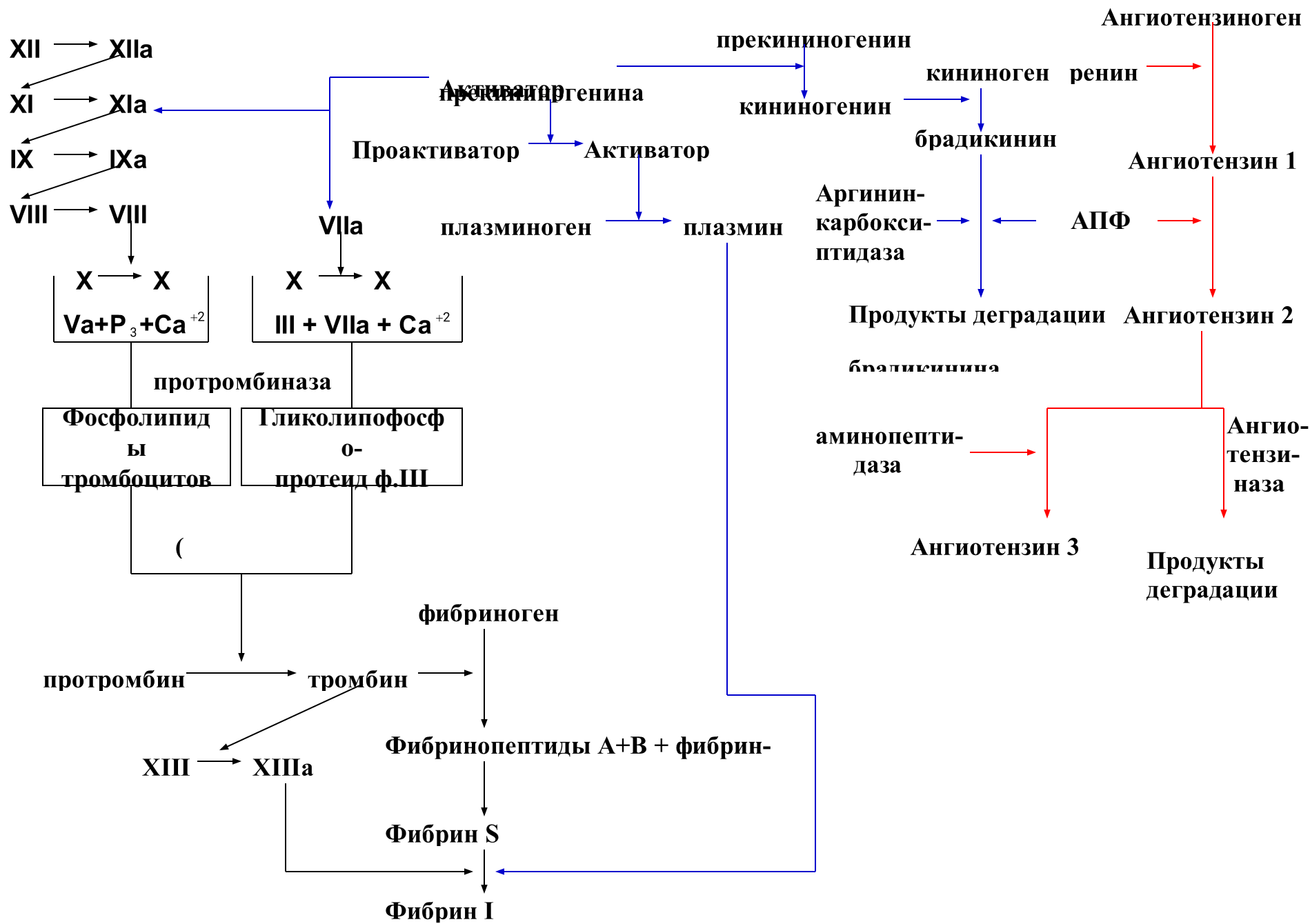
Заболевание характеризуется удлинением времени кровотечения, кровоточивостью слизистых оболочек.

Наследственная геморрагическая дистрофия тромбоцитов Бернара-Сулье. Характеризуется нарушением адгезивных свойств тромбоцитов. Количество и форма мегакариоцитов в норме, количество тромбоцитов слегка уменьшено – **умеренная тромбоцитопения**, м-боцитов около 8 мкм – **гигантские тромбоциты**, размер тро

Гемофилия А наследуется по рецессивному типу, связанному с хромосомой X (сцепле-  
нию с полом), следовательно, в подавляющем большинстве случаев клинические прояв-  
ления выявляются только у мужчин. Женщины - носители патологического гена. Патология  
связана с дефицитом коагуляционной субъединицы фактора VIII (VIII:AC).

Клинически характеризуется гематомный тип кровоточивости, возможны гематомы любой локализации, кровоизлияния в полости, желудочно-кишечные кровотечения, гематурия.

Тромбастения Гланцмана-Негли. и-  
зучается тем, что активированные тромбоциты не способны агрегировать друг с другом в след-  
ствие отсутствия в мембране специфических гликопротеиновых рецепторов – GPIIb-IIIa. о-  
личество тромбоцитов не изменено, отсутствует первичная агрегация с АДФ, нарушена фет-  
ракция сгустка и удлинено время кровотечения. Клинически - геморрагические диатезы.



# Искусственные антикоагулянты

Антикоагулянт	Механизм действия	Применение
Цитрат натрия ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 2\text{H}_2\text{O}$ )	Обратимое связывание ионов $\text{Ca}^{2+}$	Исследование системы свертывания (объем крови/объем антикоагулянта – 9:1)
Оксалат натрия или калия	Обратимое связывание ионов $\text{Ca}^{2+}$	Используется редко, так как по сравнению с цитратом хуже связывает $\text{Ca}^{2+}$ и влияет на стабильность фактора V
Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА)	Необратимое связывание ионов $\text{Ca}^{2+}$	Морфологическое исследование крови, инактивирует факторы V и VIII
Гепарин	Стимуляция связывания тромбина с антитромбином и ингибирование свертывания крови	Биохимические и гормональные исследования, маркеры опухолей. Вызывает такие комплексные изменения, что невозможно оценить состояние гемостаза
Флуорид натрия	Связывание ионов $\text{Ca}^{2+}$	Определение глюкозы, подавляет гликолиз в тромбоцитах

# Тесты для оценки сосудистого и тромбоцитарного компонентов гемостаза

- **Время кровотечения**

- это время от момента нанесения стандартной раны кожи до момента прекращения вытекания крови; характеризует функциональную активность тромбоцитов и их взаимодействие с сосудистой стенкой. Время кровотечения не выявляет всех тромбоцитарных нарушений (такого метода вообще не существует), этот скрининговый тест позволяет заподозрить тромбоцитопатии различного генеза, болезнь Виллебранда и нарушения проагрегантных свойств сосудистой стенки. Метод плохо стандартизуется. Результаты теста позволяют лишь предположить наличие тех или иных нарушений.

- **Динамический анализ функций тромбоцитов**

Новым подходом в лабораторной диагностике является имитирование тромбоцитарного гемостаза на приборе PFA-100®. В измерительном картридже цитратная кровь пропускается через капилляр диаметром 150 мкм, моделирующий микрососуд, покрытый пленкой из коллагена/адреналина или коллагена/АДФ. Это сопровождается образованием тромбоцитарной пробки, что оценивается по перфузионному давлению. Остановка перфузии фиксируется как «время окклюзии сосуда». Метод позволяет эффективно с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять дефицит фактора Виллебранда, функциональные нарушения тромбоцитов, вызванные аспирином, наследственные и приобретенные нарушения адгезии и агрегации тромбоцитов.

## • Исследование агрегации тромбоцитов

Агрегацию тромбоцитов исследуют на агрегометре с использованием индукторов агрегации. Исследование агрегации проводят в плазме, богатой тромбоцитами (желательно содержащую примерно 200 клеток/нл.) Это требование затрудняет оценку агрегации тромбоцитов при тромбоцитопении. Пробы помещаются в кювету агрегометра, который представляет собой оптический прибор с регистрацией проходящего света. Проба в кювете постоянно перемешивается специальной мешалкой. При формировании агрегатов повышается прозрачность плазмы и, следовательно, увеличивается поток проходящего через кювету света. Изменение светопропускания регистрируется в виде кривой. Исследования проводят с АДФ, адреналином, тромбином, арахидоновой кислотой, коллагеном.

### Изменение агрегатограмм при нарушении функции тромбоцитов

Болезнь	АДФ		Адреналин		Арахидоновая кислота	Тромбин	Коллаген	Ристоцетин
	Первая волна	Вторая волна	Первая волна	Вторая волна				
Болезнь Виллебранда	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	↓
Синдром Бернара–Сулье	Н	Н	Н	Н	Н	Н/↓	Н	↓
Тромбоцитостения Гланцмана	↓	↓	↓	↓	↓	↓		+/-
Передозировка аспирина	↓	↓	↓	↓	↓	+/-	↓	+/-
Синдром серых тромбоцитов	↓	↓/↓↓	↓	↓	Н/↓	+/-	↓	+/-



# Коагуляционные методы

Коагуляционные, или клоттинговые, методы основаны на определении промежутка времени от добавления стартового реактива, запускающего каскад свертывания плазмы, до момента образования сгустка (выпадения фибрина). При постановке коагуляционных тестов необходимо перемешать плазму с реактивом до гомогенной суспензии и поддерживать стабильной температуру реакции. Коагуляционные тесты - в настоящее время наиболее распространенный методический подход для оценки плазменного гемостаза в клинико-диагностических лабораториях.

## Преимущества и недостатки различных методов обнаружения сгустка

Методы	Преимущества	Недостатки
Механический	Принципиальная возможность работы на цельной крови, высокая толерантность к типу используемых реагентов и пробирок, низкая стоимость анализаторов	Низкая чувствительность - нет детекции слабых сгустков, необходимо применять мешалки в пробах
Оптико-механический	Точность больше, чем в механическом методе, перемешивание пробы во время снятия показаний	Чувствительность ниже нефелометрического метода, необходимо применять мешалки в пробах
Турбидиметрический	Чувствительность выше предыдущих методов, низкая стоимость анализаторов	Чувствительность ниже нефелометрического метода
Нефелометрический	Высокая чувствительность, высокая точность измерения	Высокая стоимость прибора

## • Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)

Является показателем эффективности внутреннего пути свертывания.

Используется в сочетании с тестом протромбинового времени (ПВ). Образец крови отбирается в пробирку с цитратом натрия, который связывает ионы Са. Далее образец центрифугируют, вносят активатор (каолин) и фосфолипиды, после чего добавляют раствор хлорида кальция. Измеряется время до образования сгустка.

## • Протромбиновое время (ПВ)

Является показателем эффективности внутреннего пути свертывания. Образец крови помещается в пробирку с цитратом, центрифугируют, добавляют избыток кальция и тканевой фактор (III фактор свертывания крови), после засекают время до образования сгустка. **Нормальные величины: 12-20 с.**

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, или АПТВ)	Протромбиновое время (ПВ)
Оценка активности ВМК, прекалликреина, факторов XII, XI, IX, VIII, X, V, протромбина и, в некоторой степени, содержания фибриногена*	Оценка активности факторов VII, X, V, протромбина и, в некоторой степени, содержания фибриногена*
Контроль за лечением гепарином	Контроль за лечением непрямыми антикоагулянтами (антагонистами витамина К)
Определение волчаночного антикоагулянта	

- **Протромбиновый индекс**

Рассчитывается как отношение ПВ контрольной плазмы к ПВ исследуемой плазмы пациента, выражается в процентах.  $ПИ, \% = (ПВ \text{ контрольной плазмы} / ПВ \text{ больного}) \times 100$

**Нормальные величины протромбинового индекса 93-108 %.**

**Уменьшение протромбинового индекса имеет то же значение, что и удлинение протромбинового времени.**

- **Международное нормализованное отношение (МНО)**

Нормальные значения: 0,97 – 1,4. Увеличение МНО свидетельствует о нарастании гипокоагуляции.

- **Каолиновое время свертывания (Рекальцификация плазмы)**

Время свертывания крови от ее забора до образования максимального сгустка в условиях стандартизации максимальной смачиваемости путем прибавления каолина; норма – 70-80 с, увеличение отражает дефицит факторов XII, XI, IX или избыток антикоагулянтов. В пробирку добавляют плазму, каолин и хлористый кальций и отмечают время образования сгустка.

- **Время свертывания венозной крови (по Ли-Уайту)**

Определяется скорость образования сгустка в венозной крови при 37 ° С. Набирается одинаковое количество крови в две пробирки (есть также проба с тремя пробирками), которые ставятся на водяную баню. Первую пробирку слегка покачивают для перемешивания крови, после свертывания крови в первой пробирке аналогично поступают со второй. Норма в первой пробирке 5-10 минут, во второй 8-12. нормальный суммирующий показатель 8-12 минут. Выявляет только грубые нарушения системы гемостаза. Увеличение времени свертывания при гемофилии, постгеморрагической анемии, тромбоцитопатии, тромбостении, циррозе печени, лейкозах. Уменьшение – при беременности.

- **Определение фибриногена в плазме**

Нормальные величины: у здоровых людей концентрация фибриногена в плазме крови по данным различных исследователей колеблется от 1,7 до 4 г/л. Клиническое значение. Уменьшение концентрации фибриногена отмечается при его врожденной недостаточности (афибриногенемии, гипофибриногенемии, дисфибриногенемии), тяжёлых заболеваниях печени, ДВС-синдроме, остром фибринолизе. Увеличение концентрации фибриногена отмечается при инфекционных заболеваниях, острых и хронических воспалительных процессах, новообразованиях, тромбозах, тромбоэмболиях, после травм, родов, операций.

# Тромбиновое время (ТВ)

- скрининговый тест на полимеризацию фибриногена/фибрина и на антикоагулянтную активность в плазме.
- ТВ регистрируется по свертыванию плазмы при добавлении к ней низкой или средней концентрации тромбина (бычьего или человеческого).
- ТВ определяется количеством и качеством фибриногена и присутствием антикоагулянтов в плазме. Если в плазме присутствует гепарин - ТВ будет удлиняться.
- ТВ - наиболее чувствительный тест на присутствие гепарина. Чувствительность к гепарину у ТВ зависит от рН, ионной силы тест-системы, свойств тромбина (происхождение и степень очистки), т.е. в значительной степени определяется составом набора реагентов.

