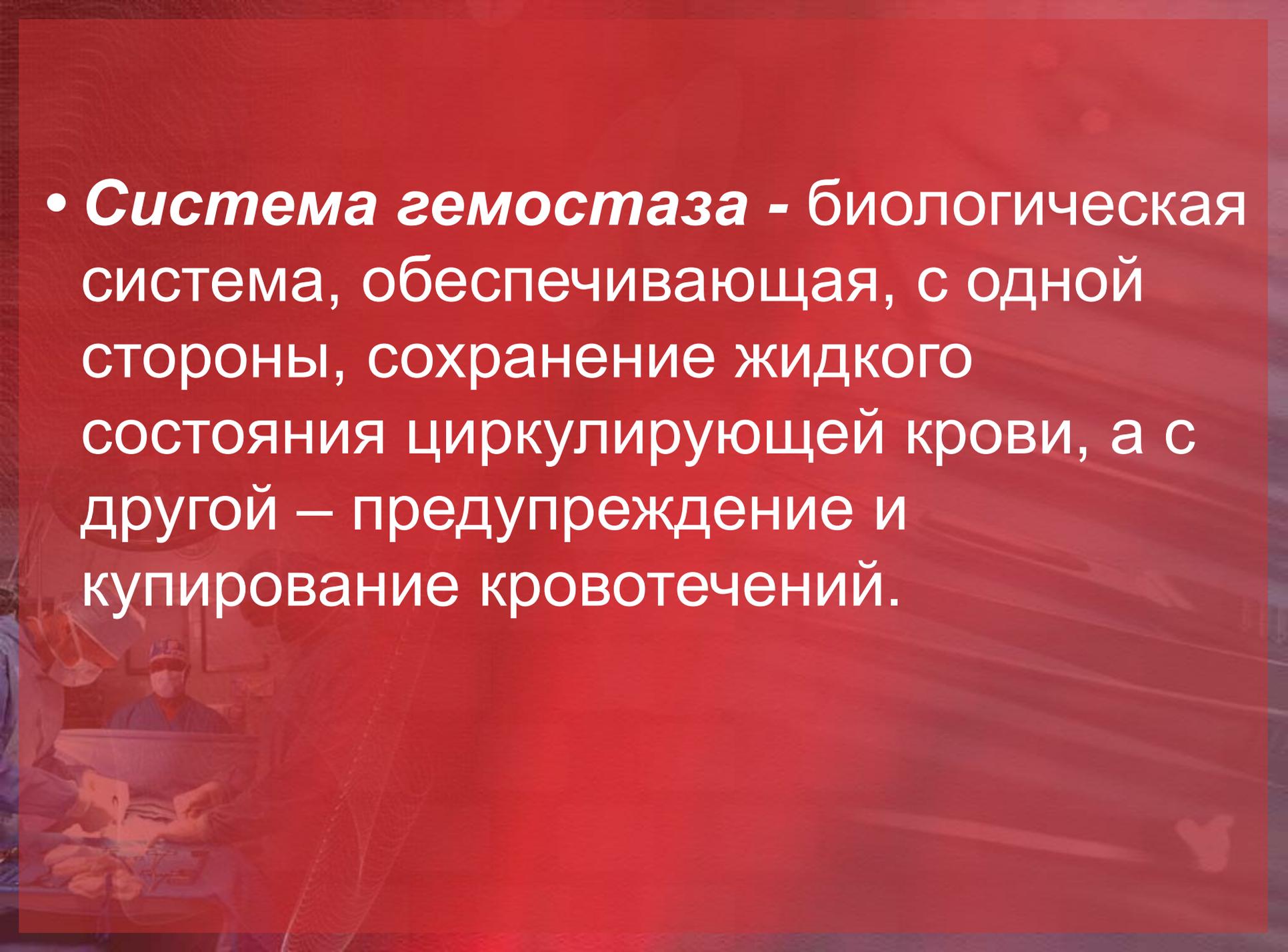


# Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза

Подготовили ассистенты: Шайкенова Л.Б.  
Дуйсенбаева А.Ж.

- ***Система гемостаза*** - биологическая система, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение жидкого состояния циркулирующей крови, а с другой – предупреждение и купирование кровотечений.



## ***□ Компоненты системы гемостаза:***

- сосудисто-тромбоцитарное звено
- система свертывания крови (коагуляция)
- физиологические антикоагулянты
- фибринолитическая система (тромболизис)



- Значительное место в обеспечении *информативности исследований гемостаза* у пациентов занимает правильный подбор определяемых параметров, исключение стандартных направлений "кровь на гемостаз" – подобная формулировка означает лишь то, что направивший врач сам не понимает, чего он хочет, и, даже получив данные, вряд ли будет в состоянии их грамотно оценить. В такой ситуации сотрудникам КДЛ иногда приходится проявлять инициативу и самим определять набор необходимых исследований.

- Для этого, конечно, нужно учитывать анамнестические данные, состояние пациента и проведенные диагностические и лечебные процедуры, поскольку многие из них влияют на состояние гемостаза. Не претендуя на подробное изложение, чему посвящены многочисленные обзоры, монографии и статьи специалистов, приведем краткие сведения о расстройствах гемостаза и перечне основных (базовых) лабораторных методов, позволяющих их выявить.

- **ВЗЯТИЕ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ** – составная часть *преаналитического этапа*, соблюдение условий которого является важнейшим элементом культуры лабораторных исследований. *Преаналитический этап в гемостазиологии* включает:

- адекватное назначение анализов, подбор информативных методик,
- подготовку пациента к исследованию с *обязательным учетом проведенных процедур и полученных лекарственных препаратов, особенно инфузионных и трансфузионных форм,*
- взятие крови из вены с отбрасыванием первых нескольких капель (лучше использовать специальные вакуумные пробирки с антикоагулянтom),
- быструю транспортировку в лабораторию и первичную обработку пробы с *точными и стандартными условиями центрифугирования и отделения плазмы.*

- Процесс свертывания крови - это целая цепь последовательных ферментативных реакций, в которой проферменты, активируясь, способны активировать другие факторы свертывания крови. Удобно рассматривать схему коагуляции в виде каскада ферментативных реакций, условно разделенного на внутренний и внешний механизмы. Конечным продуктом коагуляционных реакций и по внешнему и по внутреннему механизму является фибрин.

### Внутренний механизм свёртывания

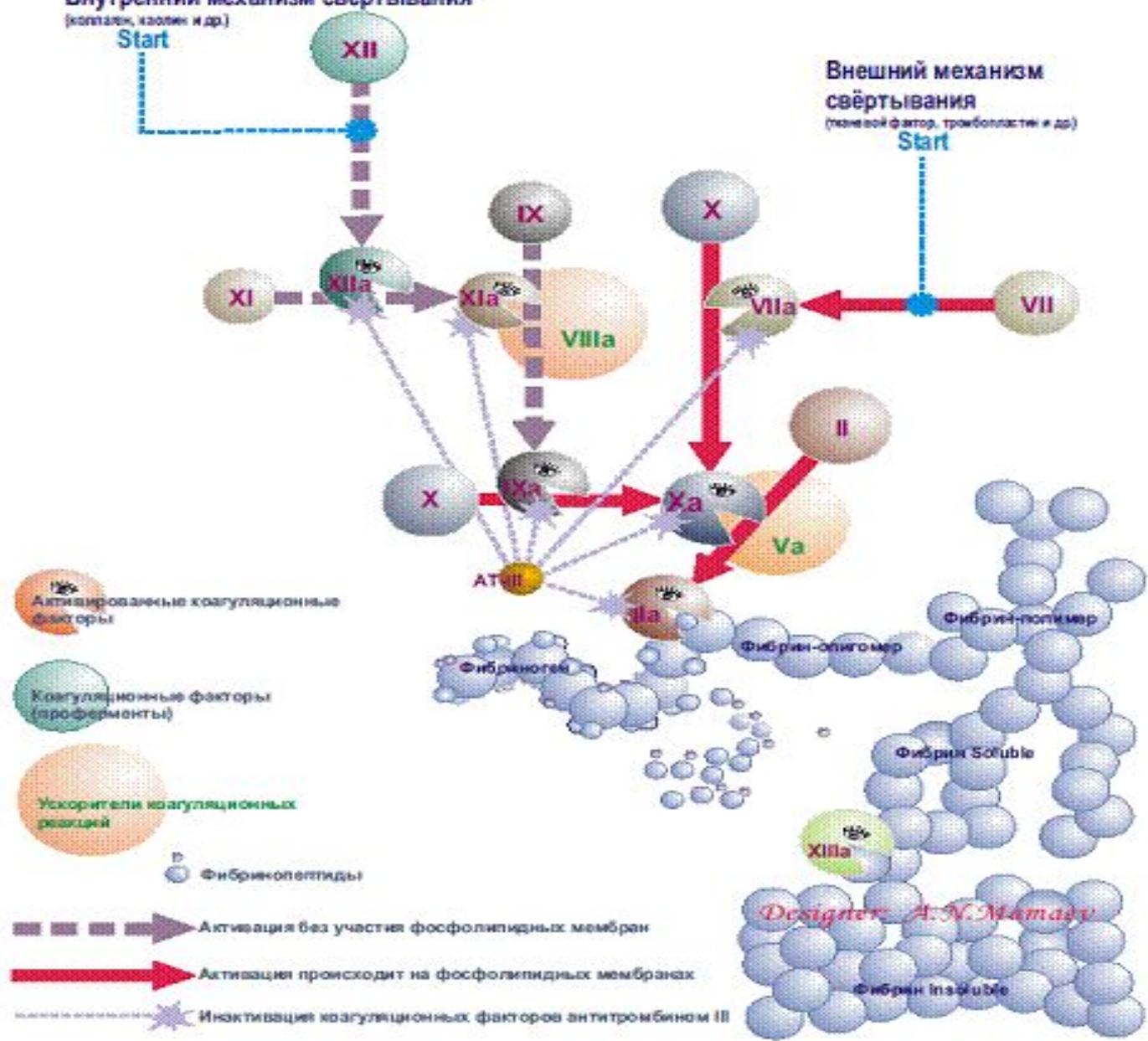
(коллаген, каолин и др.)

Start

### Внешний механизм свёртывания

(тканевой фактор, тромбоциты и др.)

Start



Активированные коагуляционные факторы

Коагуляционные факторы (проферменты)

Ускорители коагуляционных реакций

Фибринолитиды

Активация без участия фосфолипидных мембран

Активация происходит на фосфолипидных мембранах

Инактивация коагуляционных факторов антитромбином III

Designer: A. N. Mamarov

Фибрин Soluble

Фибрин Insoluble

Фибрин-полимер

Фибрин-олигомер

Фибриноген



# Диагностика патологии гемостаза

## направлена на решение следующих задач:

- определение причин различных видов кровоточивости и тромбозов, подбор специфических методов профилактики и лечения;
- отбор групп риска для предупреждения послеоперационных кровотечений и тромбоэмболий;
- снижение летальности и инвалидизации при неотложных и критических состояниях, протекающих с ДВС-синдромом;
- решение проблем привычного невынашивания беременности при антифосфолипидном синдроме (АФС), тромбофилиях;
- контроль безопасности и эффективности терапии антикоагулянтами, антиагрегантами, тромболитиками, средствами заместительной терапии.

# Методы исследования системы гемостаза

- **Клинико-функциональные пробы** при исследовании сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза (в условиях нашей лаборатории не проводятся):
  - определение ломкости микрососудов с помощью пробы манжеточной компрессии (проба Кончаловского-Румпель-Леёде); определение времени кровотечения из микрососудов без дополнительной компрессии (проба Дьюка с проколом уха и др.), либо на фоне венозного стаза (сдавление плеча манжетой до 40 мм.рт.ст. с проколами или надрезами кожи предплечья) – пробы Айви и Борхгревинка и др.

## • Лабораторные методы:

- измерение числа и функции тромбоцитов (адгезия, агрегация) путем микроскопии или с использованием гематологических анализаторов (при скрининговых исследованиях) и агрегометров;
- функциональные коагуляционные, или так называемые клоттинговые (по оценке времени свертывания вручную или с использованием коагулометров разных конструкций);
- определение параметров фибринолиза;

- амидолитические (тесты с использованием хромогенных субстратов к тромбину, плазмину, фактору Ха, XIIIa и др., и фотометров с фиксированной длиной волны измерений);
- иммунологические методы, позволяющие выявить уровень искомого антигена или антител при АФС и др.
- выявление генетических аномалий методом ПЦР (мутации Лейден-резистентности фактора Va к активированному протеину С, гена протромбина G 20210, гена метилентетрагидрофолатредуктазы и др.).

- Для улучшения качества исследования системы гемостаза важно придерживаться следующих принципов. При обследовании больных необходимо выделять два последовательных этапа диагностики: первичного скрининга с использованием скрининговых тестов и – на втором этапе – проб, позволяющих уточнить диагноз. Для подтверждения диагноза в случае выявления серьезных нарушений в системе гемостаза (снижение уровня фактора Виллебранда, факторов свертывания, тромбоцитопении, дефицита или аномалии действия физиологических антикоагулянтов, наличия волчаночного антикоагулянта, выраженной тромбинемии и др.) необходимо повторное обследование.

- Интерпретация показателей коагулограммы должна проводиться с учетом возможного влияния принимаемых лекарственных средств и других воздействий. Например, учитывать особенности питания при контроле за лечением антикоагулянтами непрямого действия (АНД).  
Целесообразно отказаться от дублирующих или малоценных, а также устаревших и неточных методов исследования. Использование производительных и высокоточных (по сравнению с мануальными определениями) коагулометров и агрегометров, а также стандартизированных расходных материалов, является предпочтительным.  
В данном пособии приведены референсные значения, которые приняты в нашей лаборатории. Референсные величины могут варьировать при смене лота или производителя набора, актуальные референсные значения указываются в бланке результата анализа.

# Тесты для оценки сосудисто-тромбоцитарного компонента гемостаза

- **Время кровотечения** - это время от момента нанесения стандартной раны кожи до момента прекращения вытекания крови. Оно характеризует функциональную активность тромбоцитов и взаимодействие тромбоцитов 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.

# Количество тромбоцитов в крови

- *Референсные значения:  $170-350 \times 10^9/\text{л}$*
- *СНИЖЕНИЕ ЧИСЛА тромбоцитов ( $<170 \times 10^9/\text{л}$ ):*
- острый ДВС-синдром;
- острый лейкоз и миелодиспластические синдромы; гипо- и апластические анемии;
- нарушение образования в организме тромбоцитопэтина; химиотерапия и лучевая терапия;
- тромботическая тромбоцитопеническая пурпура и гемолитико-уремический синдром;
- спленомегалия и гепатолиенальный синдром;

- гепарин-индуцированная тромбоцитопения;
- эклампсия и преэклампсия;
- экстракорпоральное кровообращение;
- гемодиализ у больных с хронической почечной недостаточностью, гемосорбция;
- интенсивная трансфузионная терапия;
- пароксизмальная ночная гемоглобинурия;
- иммунные формы патологии (СКВ и др. коллагенозы, АФС, иммунная тромбоцитопеническая пурпура);

□ *ПОВЫШЕНИЕ ЧИСЛА тромбоцитов (>350?10<sup>9</sup>/л):*

- мегакариоцитарные и миелолейкозы, эритремия;
- вторичный, реактивный тромбоцитоз в случае спленэктомии (через 1-3 недели),
- внутриполостные кровоизлияния после оперативных вмешательств, спустя 7-10 дней от начала подострого токсико-инфекционного ДВС-синдрома,
- после перенесенного острого кровотечения,
- при злокачественных новообразованиях (предвестник опухоли легкого, поджелудочной железы) и других причинах хронического ДВС-синдрома.

# Индуцированная агрегация тромбоцитов

- При исследовании функций тромбоцитов индуктор агрегации добавляется к плазме, обогащенной тромбоцитами. Для исследования индуцированной агрегации тромбоцитов используют физиологические индукторы, такие как тромбин, адреналин, АДФ, коллаген. Кроме того, существуют специальные индукторы, такие как ристоцетин (ристомицин). Этот индуктор инициирует связывание фактора Виллебранда с мембранным рецептором Ib-IX тромбоцитов и таким образом вызывает их агрегацию.

# ***□ Методы определения агрегации тромбоцитов:***

- с АДФ
- с адреналином
- с коллагеном
- с арахидоновой кислотой
- с тромбином
- с ристомицином (ристоцетином)



# Скрининговые тесты для оценки плазменного звена гемостаза

- ***Скрининговые тесты:***
- АПТВ (активированное парциальное тромбопластиновое время)
- протромбиновое время (по Квику)
- тромбиновое время и/или фибриноген



# Активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время (АПТВ)

• *Референсные значения АПТВ: 28,6-33,6 с*

## □ *УКОРОЧЕНИЕ АПТВ:*

- активация внутреннего механизма свертывания при тромбозах, тромбоэмболиях. Это может быть связано с резистентностью фактора V к активированному протейну C, повышенным уровнем фактора VIII или активированных факторов свертывания;
- при ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза);
- возможно при нормально протекающей беременности.

## □ УДЛИНЕНИЕ АПТВ:

- дефицит факторов внутреннего пути свертывания (VIII - гемофилия А, IX – гемофилия В, XI, XII) при нормальных результатах протромбинового теста;
- дефицит факторов II, V, X в случае сопутствующей гипокоагуляции в протромбиновом тесте;
- дефицит фактора Виллебранда;
- гепаринотерапия обычным, нефракционированным гепарином (НГ) (тест выявляет сравнительно низкие концентрации антикоагулянта, приблизительно от 0,05 МЕ/мл крови);
- лечение антикоагулянтами непрямого действия (АНД);

# Протромбиновое время

- *Референсные значения ПВ: 9,2-12,2 с*

## □ *УКОРОЧЕНИЕ ПВ:*

- активация внешнего механизма свертывания при различных видах внутрисосудистого свертывания крови;
- последние недели беременности, прием пероральных контрацептивов;
- лечение концентратами факторов протромбинового комплекса («Фейба», «НовоСевен» и др.).

## □ УДЛИНЕНИЕ ПВ:

- дефицит или аномалия факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II) в случаях приема антикоагулянтов непрямого действия (варфарин, синкумар, пелентан и др.);
- болезни печени и желчевыводящей системы;
- лечение нефракционированным гепарином (тест реагирует лишь на сравнительно высокие концентрации антикоагулянта, примерно от 0,5 МЕ/мл крови и выше);
- ДВС-синдром (потребление факторов свертывания в переходную фазу и фазу гипокоагуляции);
- на фоне переливаний реополиглюкина, препаратов гидроксиптилкрахмала (инфукол, валекам, HES);

- **МНО (Международное нормализованное отношение)**, латинская аббревиатура **INR (International Normalized Ratio)** - дополнительный способ представления результатов протромбинового теста, рекомендованный для контроля терапии непрямыми антикоагулянтами комитетом экспертов ВОЗ, Международным комитетом по изучению тромбозов и гемостаза и Международным комитетом по стандартизации в гематологии.

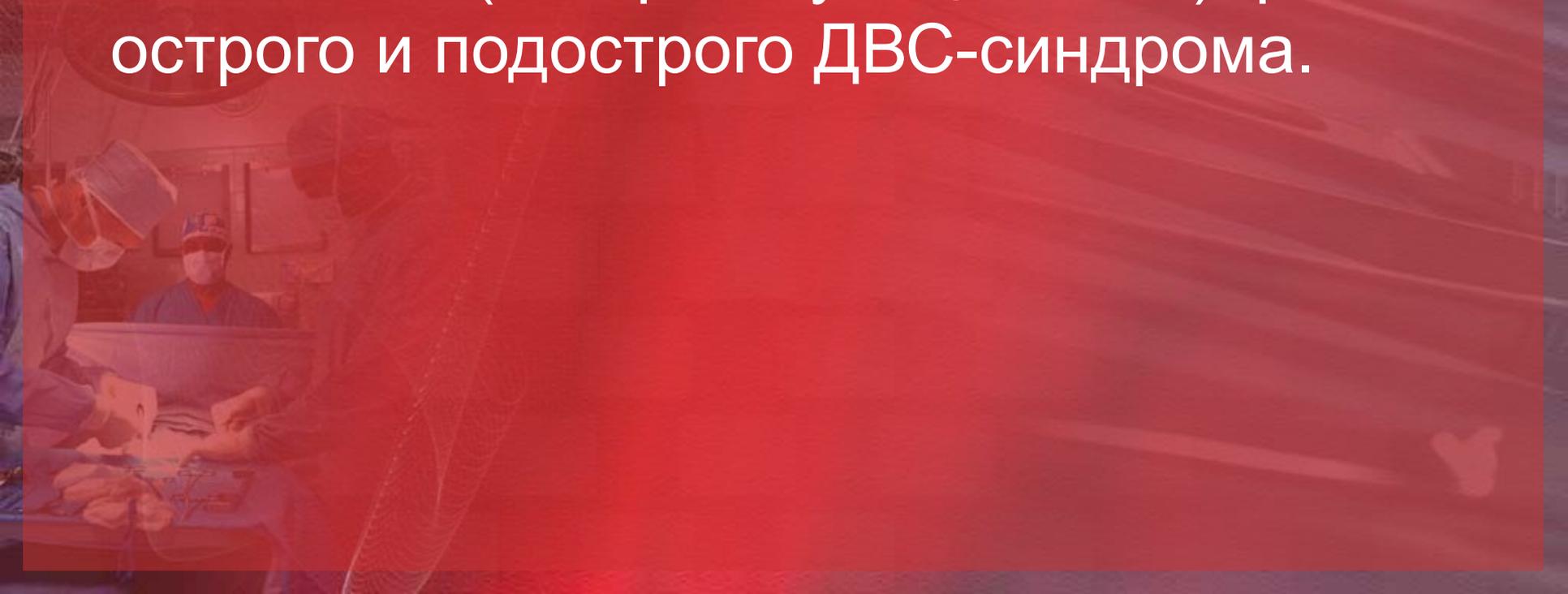
# МНО рассчитывается по формуле:

$$\text{МНО} = \left( \frac{\text{протромбиновое время пациента}}{\text{протромбиновое время донора}} \right)^{\text{ISI}}$$

где ISI (International Sensitivity Index of thromboplastin), он же МИЧ (международный индекс чувствительности) - показатель чувствительности тромбопластина, стандартизирующий его относительно международного стандарта. МНО - математическая коррекция, при помощи которой производится стандартизация протромбинового времени, что позволяет сравнивать результаты, полученные в разных лабораториях. МНО и протромбин по Квику коррелируют отрицательно - снижение протромбина по Квику соответствует повышению МНО

## □ Тромбиновое время

- **Референсные значения ТВ: 18-24 с**
- **УКОРОЧЕНИЕ ТВ:**
- гиперфибриногенемия (фибриноген 6,0 г/л и выше);
- начальная (гиперкоагуляционная) фаза острого и подострого ДВС-синдрома.



## □ УДЛИНЕНИЕ ТВ:

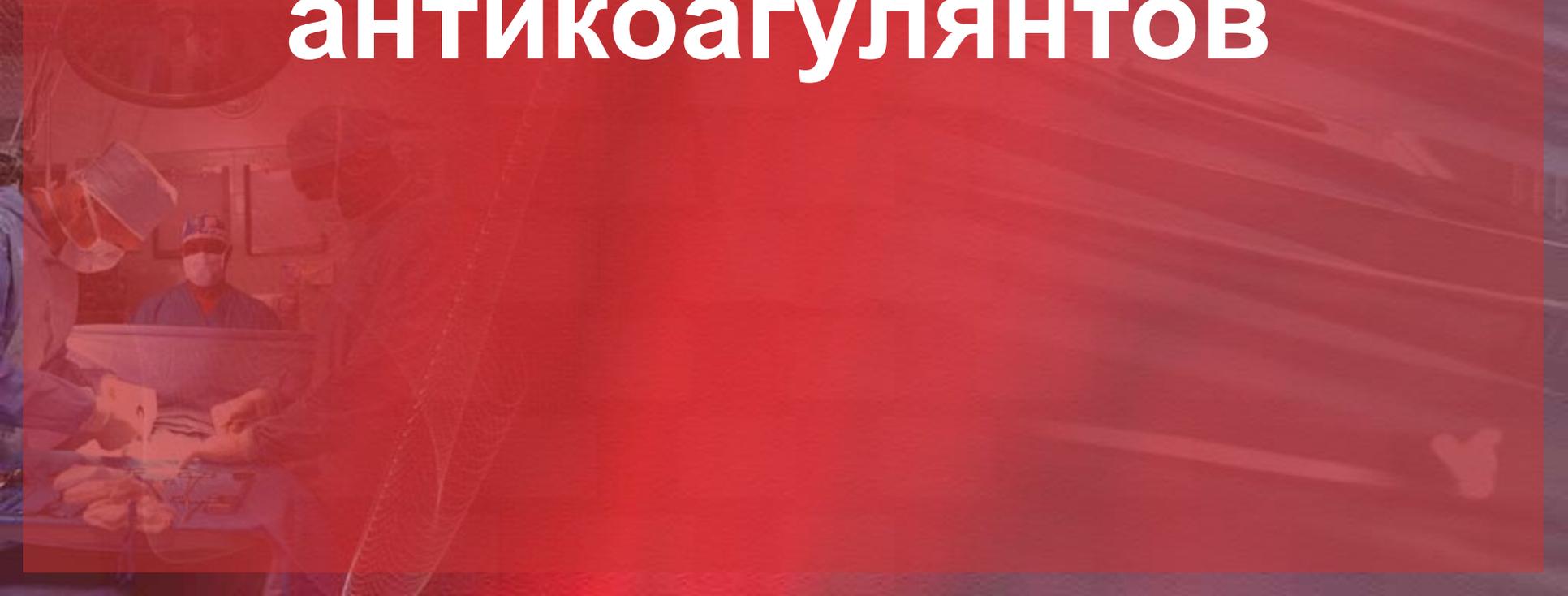
- гепаринотерапия обычным гепарином (тест реагирует на сравнительно низкие концентрации антикоагулянта, приблизительно от 0,05 МЕ/мл крови)
- гипофибриногенемия (фибриноген ниже 1,0 г/л) в случаях развития острого ДВС-синдрома и при тромболитической терапии (стрептокиназа, актилизе и др.). В последнем случае конечный этап свертывания крови ингибируется продуктами деградации фибриногена и фибрина (фрагментами D и D-димеров)
- влияние других ингибиторов полимеризации фибрин-мономера (парапротеины, миеломные белки и др.)
- дефекты при получении крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия, забор крови из гепаринизированного катетера)

# Концентрация фибриногена в плазме

**□ Референсные значения фибриногена: 2,75- 3,65 г/л**

- **СНИЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ФИБРИНОГЕНА:**
- острый ДВС-синдром;
- дисфибриногенемии.
- **ПОВЫШЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ФИБРИНОГЕНА:**
  - инфекционные, воспалительные и аутоиммунные процессы;
  - подострый и хронический ДВС-синдром;
  - нормально протекающая беременность.

# Методы определения физиологических антикоагулянтов



# Протеин С

- Определение протеина С с использованием хромогенного субстрата.
- Определение протеина С коагуляционным методом.
- Определение протеина С иммунохимическим методом.

## □ Референсные значения протеина С: 94-124%

- *ПОВЫШЕНИЕ* протеина С отмечается во время беременности.
- *СНИЖЕНИЕ* протеина С:
  - врожденный (наследственный) дефицит или аномалии протеина С;
  - геморрагическая болезнь новорожденных;
  - заболевания печени с нарушением ее функции;
  - ДВС-синдром;
  - нефротический синдром;
  - синдром острой дыхательной недостаточности;
  - менингококковый сепсис;
  - гемодиализ;

# Протеин S

- Протеин S – витамин-К-зависимый белок, который является кофактором активированного протеина C.
- Определение протеина S коагуляционным методом.
- Определение протеина S иммунохимическим методом.



## □ Референсные значения протеина S: 81-111%

- УМЕНЬШЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ (активности) протеина S:
- врожденный (наследственный) дефицит;
- врожденное (наследственное) уменьшение свободной фракции протеина S;
- заболевания печени с нарушением ее функции;
- ДВС-синдром;
- нефротический синдром;
- системная красная волчанка;
- лечение L-аспарагиназой;

# Антитромбин III

□ *Референсные значения АТ: 86 - 116%*

- *СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ (активности) АТ:*
- врожденный (наследственный) дефицит или аномалии АТ (снижение активности или чувствительности к гепарину);
- заболевания печени (опухоли, цирроз, алкогольный гепатит);
- нефротический синдром (протеинурия свыше 5 г/л);
- карцинома легких;
- ДВС-синдром;
- множественные травмы, тяжелые роды, поздние гестозы;

# *□ УВЕЛИЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ (активности) АТ:*

- во время менструации;
- острый вирусный гепатит, холестаза;
- прием анаболических стероидов;
- лечение пероральными (непрямыми) антикоагулянтами.



# Тесты для исследования фибринолитической системы

- Наиболее распространенные в клинической практике методы оценки состояния фибринолитической системы основаны на:
  - 1) исследовании времени и степени лизиса (растворения) сгустков крови или эуглобулиновой фракции плазмы (общеоценочные пробы);
  - 2) определении концентрации плазминогена, его активаторов и ингибиторов.

# *Время лизиса эуглобулиновых сгустков / XIIIa зависимый фибринолиз*

- *Референсные значения: XIIIa зависимый фибринолиз 4–10 мин*
- *УКОРОЧЕНИЕ ВРЕМЕНИ ЛИЗИСА (активация фибринолиза):*
  - *уменьшение концентрации фибриногена – гипо- и дисфибриногенемия.*
- *УВЕЛИЧЕНИЕ ВРЕМЕНИ ЛИЗИСА (угнетение фибринолиза):*
  - *гиперфибриногенемия.*

# Плазминоген и тканевой активатор плазминогена

□ *Референсные значения плазминогена: 71-101%*

- *УВЕЛИЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПЛАЗМИНОГЕНА И ЕГО АКТИВАТОРОВ:*
- панкреатит;
- панкреонекроз;
- метастазирующий рак предстательной железы, яичников;
- метастазы меланомы;
- операции на легких, предстательной, поджелудочной железе;
- гиперкатехоламинемия (стресс, тиреотоксикоз, гипертонический криз, введение адреналина);
- патология беременности;

*□ ДЕФИЦИТ ПЛАЗМИНОГЕНА, ЧАЩЕ  
ДЕФИЦИТ ТКАНЕВОГО  
АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА:*

- рецидивирующие венозные тромбозы;
- системные васкулиты;
- сепсис;
- нефротический синдром.

# Особенности системы гемостаза при физиологической беременности

- Важную роль в поддержании нормальной деятельности фето-плацентарной системы играет система гемостаза. Изменения в системе гемостаза беременной в сторону гиперкоагуляции являются физиологическими и связаны с появлением маточно-плацентарного круга кровообращения.

- **Гиперкоагуляция при беременности** – физиологическое состояние, которое обеспечивает эффективную имплантацию яйцеклетки, адекватное соединение плаценты с маткой и остановку кровотечения во время родов. Однако необходимо учитывать, что при беременности повышен риск венозных тромбозов и эмболии легочных артерий.

При физиологическом течении беременности изменения показателей системы гемостаза начинают регистрировать не раньше, чем со второго месяца беременности, затем изменения прогрессивно увеличиваются вплоть до родов.

Скрининговые тесты ***ПВ, АПТВ*** указывают на ***развитие гиперкоагуляции.***

Отдельные показатели гемостаза чаще всего меняются следующим образом:

- увеличиваются концентрация фибриногена;
- повышается концентрация дериватов фибриногена – продуктов деградации фибрина и фибриногена, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК);
- наиболее значительным является ***угнетение фибринолиза*** во 2-м и, особенно, в 3-м триместре беременности.
- по мере развития беременности происходит постепенное снижение активности антитромбина III;
- имеет место некоторое повышение факторов IX, X и протромбина, содержание ф.VII и ф.VIII;
- содержание фактора XIII имеет тенденцию к снижению.