

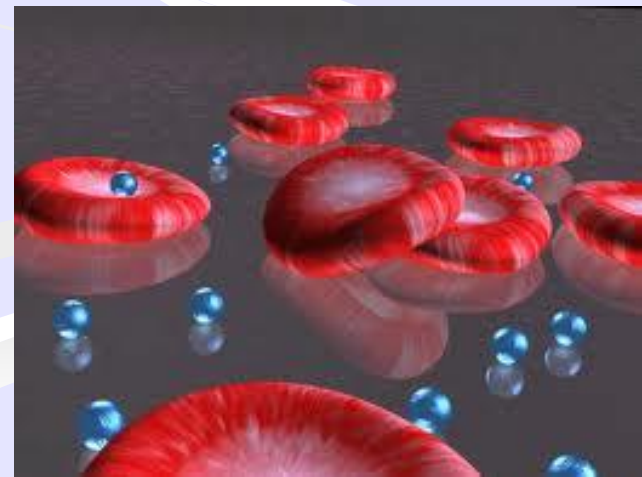


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра клинической лабораторной диагностики

Лабораторные исследования системы гемостаза



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)

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 антикоагулянтом),
- 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.

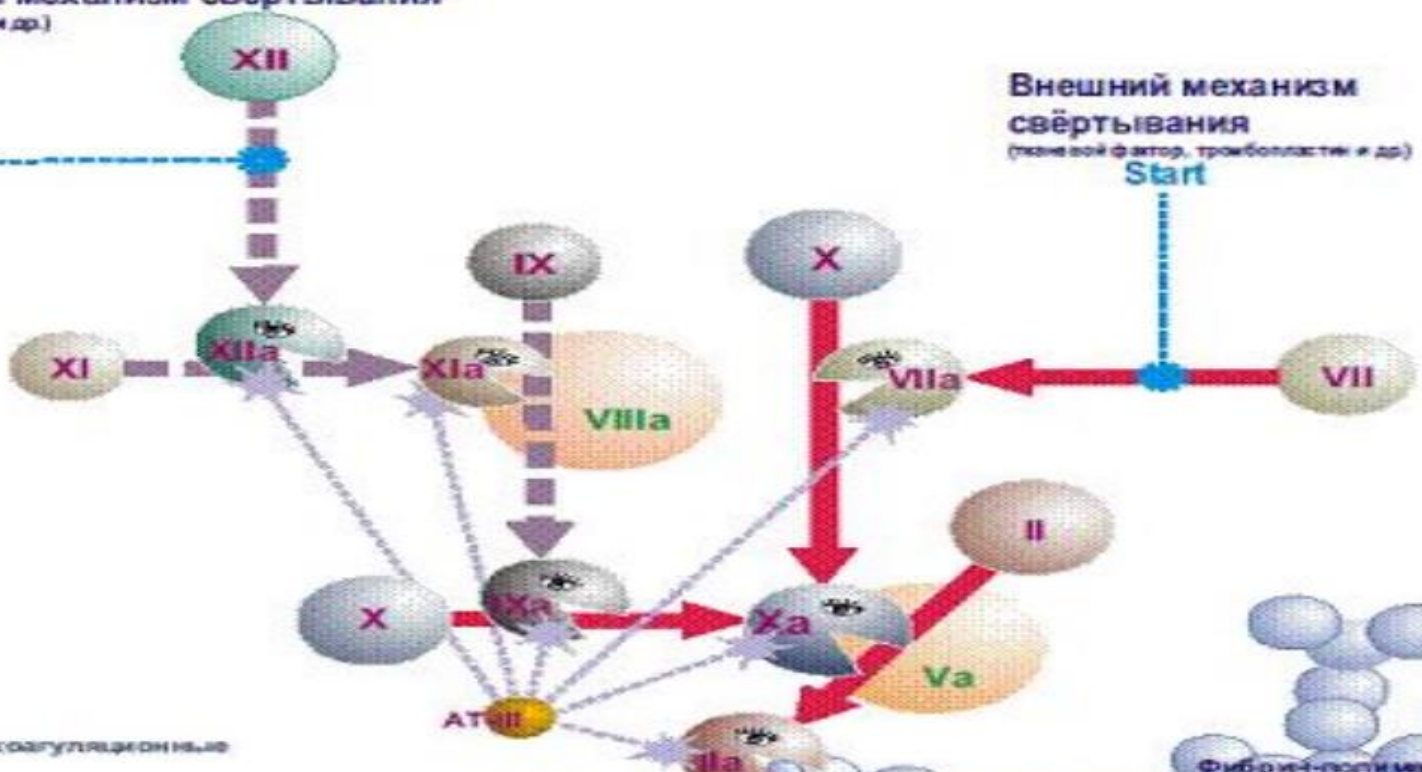


Внутренний механизм свёртывания (коллакт, тромбин и др.)

Внешний механизм свёртывания (тканевой фактор, тромбоциты и др.)

Start

Start



Активированные коагуляционные факторы

Коагуляционные факторы (проферменты)

Ускорители коагуляционных реакций

Фибринополимеры

Активация без участия фосфолипидных мембран

Активация происходит на фосфолипидных мембранах

Ингибирование коагуляционных факторов антитромбином III



Designer: A. N. Mamaev

Схема фибринолиза

Внутренний механизм

Внешний механизм

Активаторы



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;

Лабораторные методы:

- 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 C, 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.

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 тромбоцитопоэтина;
 - химиотерапия и лучевая терапия;
 - тромботическая тромбоцитопеническая пурпура и гемолитико-уремический синдром;
 - спленомегалия и гепатолиенальный синдром;

Количество тромбоцитов в крови

- **СНИЖЕНИЕ ЧИСЛА** тромбоцитов ($<170 \times 10^9/\text{л}$):
 - 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).

Количество тромбоцитов в крови

- **ПОВЫШЕНИЕ ЧИСЛА** тромбоцитов ($>350 \times 10^9/\text{л}$):
 - 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.

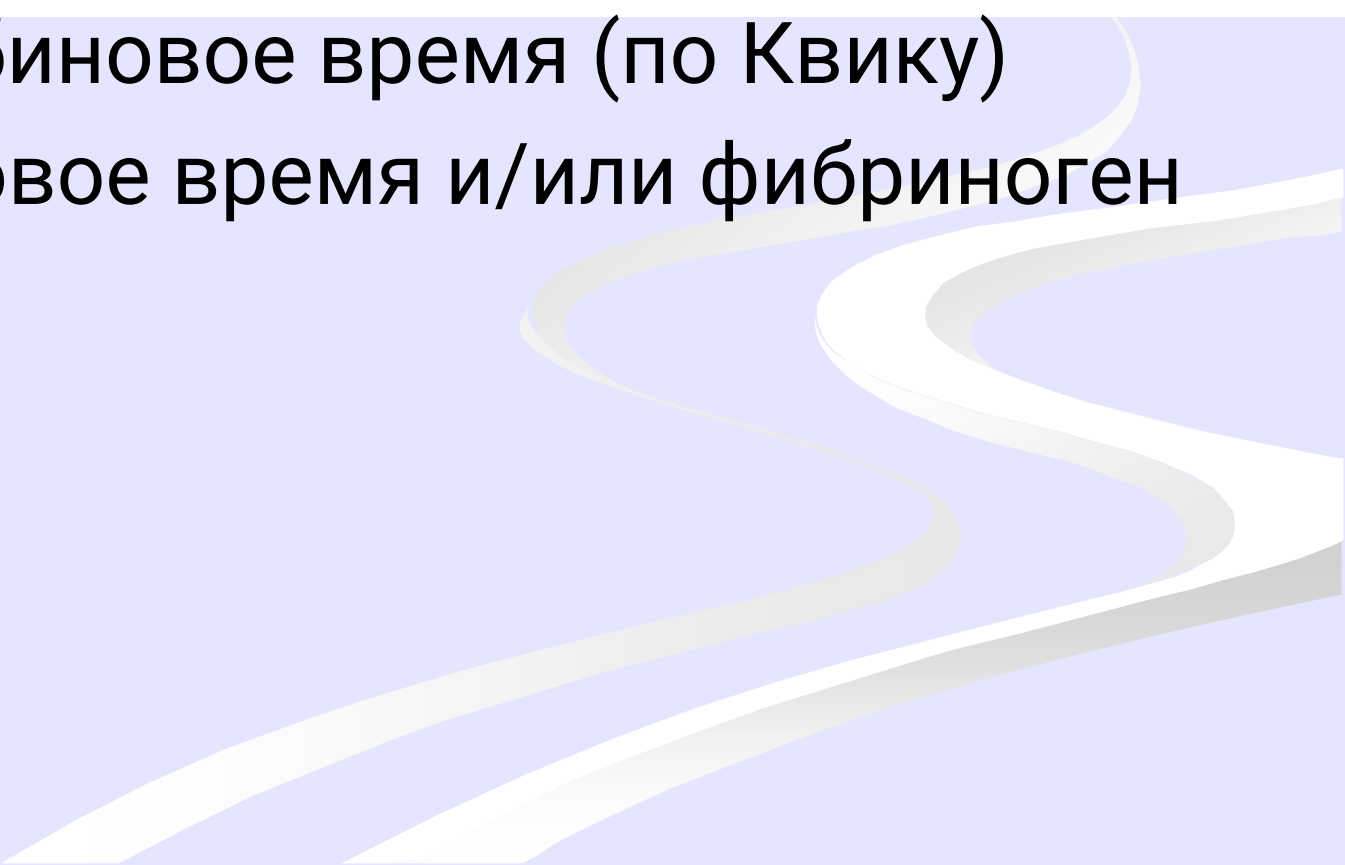
Индуцированная агрегация тромбоцитов

- 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 (ристомин). 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:

- 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 протеину C, повышенным уровнем фактора VIII или активированных факторов свертывания;
 - при ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза);
 - возможно при нормально протекающей беременности.

Активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время (АПТВ)

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.).

Протромбиновое время

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.

Тромбиновое время

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.

Протеин С

- 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.

Протеин S

- 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

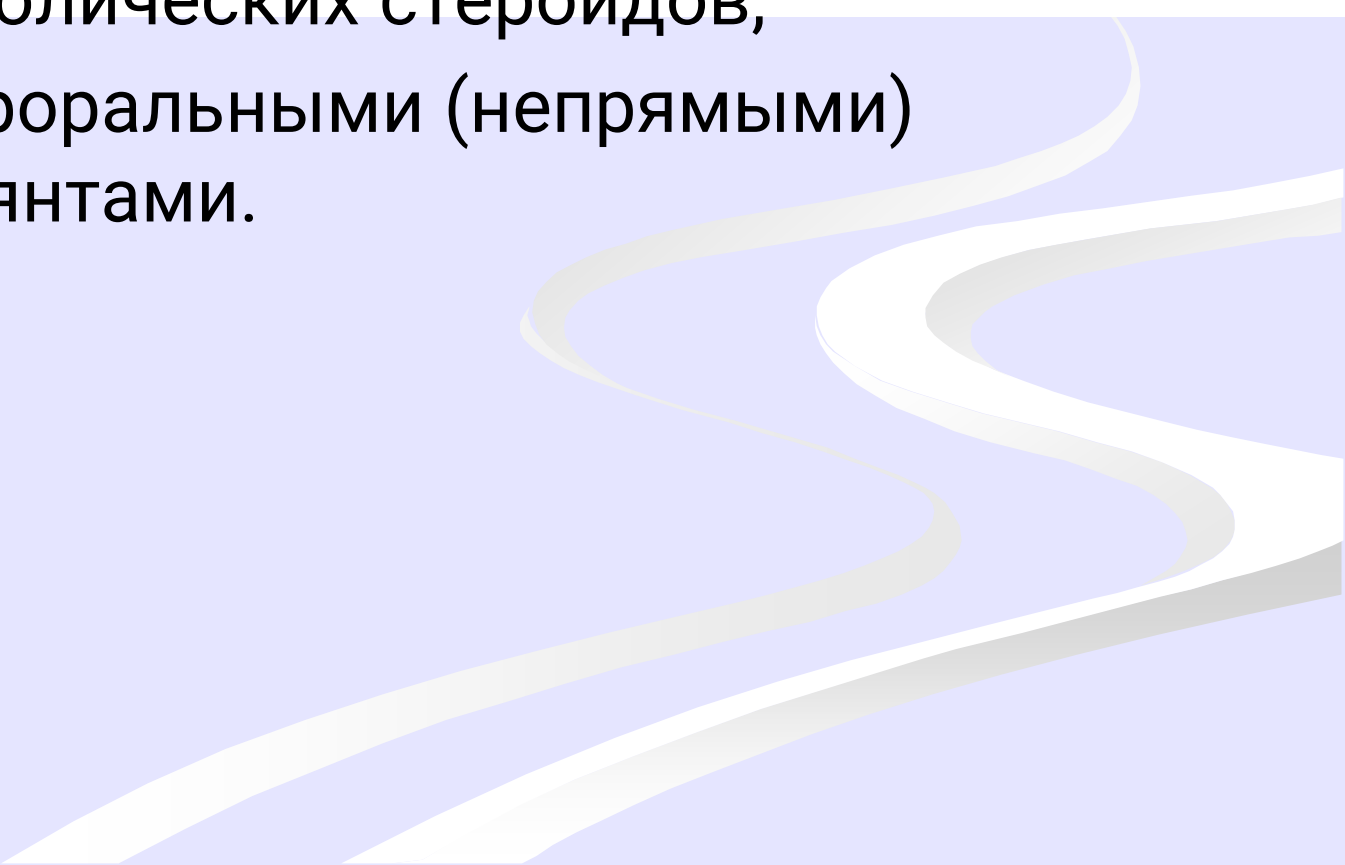
- Референсные значения АТ: 86 - 116%

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;

Антитромбин III

УВЕЛИЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ (активности) АТ:

- во время менструации;
 - острый вирусный гепатит, холестаза;
 - прием анаболических стероидов;
 - лечение пероральными (непрямыми) антикоагулянтами.
- 
- A decorative graphic consisting of several overlapping, wavy, ribbon-like shapes in shades of white and light gray, positioned in the lower right quadrant of the slide.

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 / XIIa зависимый фибринолиз

- Референсные значения: XIIa 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;

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.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

