



Исследование гемостаза в клинике

Ст. преподаватель кафедры лабораторной
диагностики ИДПО БГМУ, к.м.н.

БИЛАЛОВ ФАНИЛЬ САЛИМОВИЧ

Преаналитический этап исследования гемостаза

- При исследовании ТЦ гемостаза - за день до сдачи крови избегать стрессов, физических нагрузок, смены режима дня, изменений в питании, приема алкоголя.
- Максимально аккуратная венепункция, жгут – не более 1 мин !
- **Без крайней необходимости не брать кровь из внутривенного катетера !**
- Взятую **кровь в закрытой пробирке** как можно быстрее обработать для получения плазмы (1 ч; для ПВ – до 24 ч).
- Плазму хранить при комнатной t^o до 4 ч, иначе – заморозить.

Исключить или учесть действие вводимых лекарств;

после инфузии выждать не менее 1 ч (если возможно).

Вакуумные пробирки для коагулологии



Цитрат – 3,2 % / 3,8 %

Обязательно правильное соотношение цитрат / кровь: 0,109 / 0,129

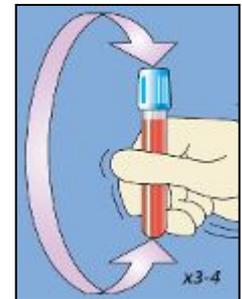
М

Недобор крови → избыток цитрата, замедление свертывания,

существенное (>10%) удлинение АЧТВ и ПВ.

гематокрит – от 25-30 до 55 %.

- ❖ 3-4 аккуратных переворачивания
(**Энергичное перемешивание => активация ТЦ**).
- ❖ Нарушение температурного режима => **ГЕМОЛИЗ + АКТИВАЦИЯ ТЦ**



Стабильность анализов при исследовании гемостаза



- АЧТВ, отдельные факторы – до 2-4 час (при гепаринотерапии – до 1 час) при комн. t°
- **Тромбоциты** – до 2-4 час при комн. t° . **Не охлаждать!**
- D-димер в цитратной и гепарин. плазме – до 8 час. при комн. t° .
- ПВ / МНО (плазма, цельная кровь) – до 24 час только при комн. t° .
- фибриноген, антитромбин III, протеин С в цитратной плазме, фактор Виллебранда в ЭДТА-плазме, гомоцистеин в ЭДТА-флюоридной плазме, антикардиолипиновые антитела в сыворотке - не менее суток при комн. t° .

Что может наблюдаться у пациента?

1. **Наклонность к кровотечениям** (в том числе у родственников, носовые, маточные, кишечные и т.д.)
2. **Наклонность к тромбозам** (инфаркты, инсульты, ТЭЛА, венозные / артериальные тромбозы и др., в т.ч. у родственников)
3. **Тромбогеморрагические проявления (ДВС)**
4. **Выраженных нарушений гемостаза нет**, но предполагается инвазивное вмешательство, в т.ч. хирургическая операция
5. **Пациент принимает препараты, влияющие на свертывание** (гепарин, варфарин, фибринолитики, антиТЦ препараты)

Для чего исследовать гемостаз ?

- При наличии клинических проявлений - **диагностика, определение причин нарушений гемостаза**
- **Оценка риска кровотечения или тромбоза** перед инвазивной процедурой (операция и др.)
- **Контроль лечения препаратами, влияющими на гемостаз** (антикоагулянты прямого и непрямого действия, тромболитические и антиТЦ препараты, ингибиторы протеаз...)

Очень важен клинический этап - определение склонности к гемorragиям или тромбозам.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПАЦИЕНТА, влияющий на показатели гемостаза

- **Новорожденные**: содержание витамин К-зависимых факторов свертывания крови снижено и достигает уровня взрослых только 6 мес. возрасту
- Для **беременных** характерно повышение концентраций фактора VIII, фактора Виллебранда, фибриногена, Д-димеров и снижение активности протеина S и числа тромбоцитов,

СТАТУС ПАЦИЕНТА, влияющий на показатели гемостаза

- - **высокое содержание в крови билирубина** или **липидов** вследствие повышения «мутности» плазмы может изменять значения показателей гемостаза (пациенты с синдромом Жильбера, дислипидемией, гемолитической болезнью, гепатиты)
- - наличие в крови **антител к гликопротеинам тромбоцитов** приводит к их снижению в ОАК (МЕНЕЕ 150 ТЫС.)
- - при наличии у пациента **криоглобулинов** приводит к снижению количества тромбоцитов и лейкоцитов

Гемостаз



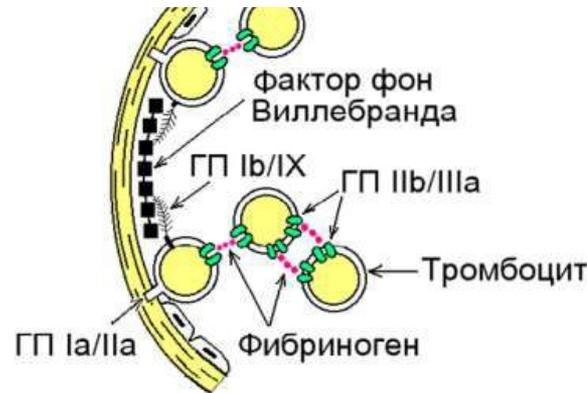
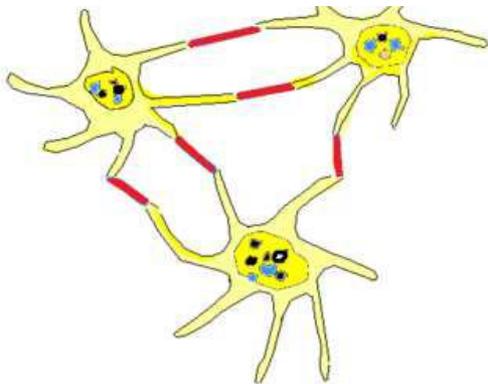
Поддержка крови в жидком состоянии крови, обеспечение трофики тканей

Остановка кровотечения при повреждении сосудистой стенки

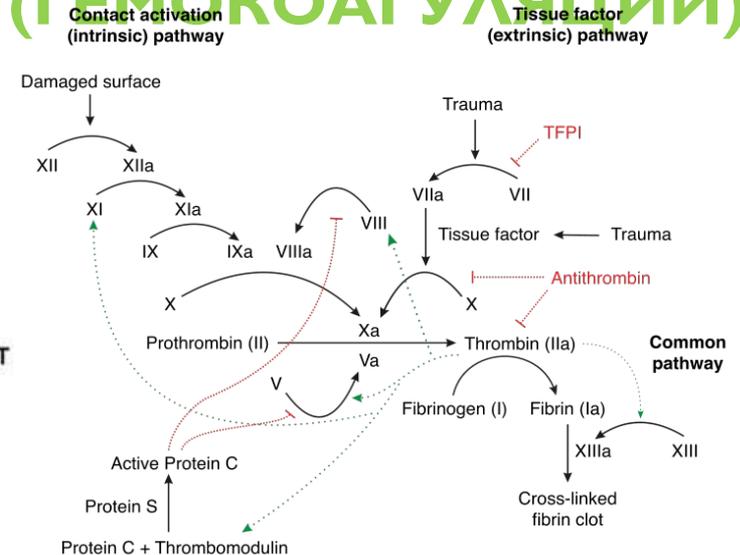
Тромбообразование

- Тромбообразование происходит при участии двух основных процессов:

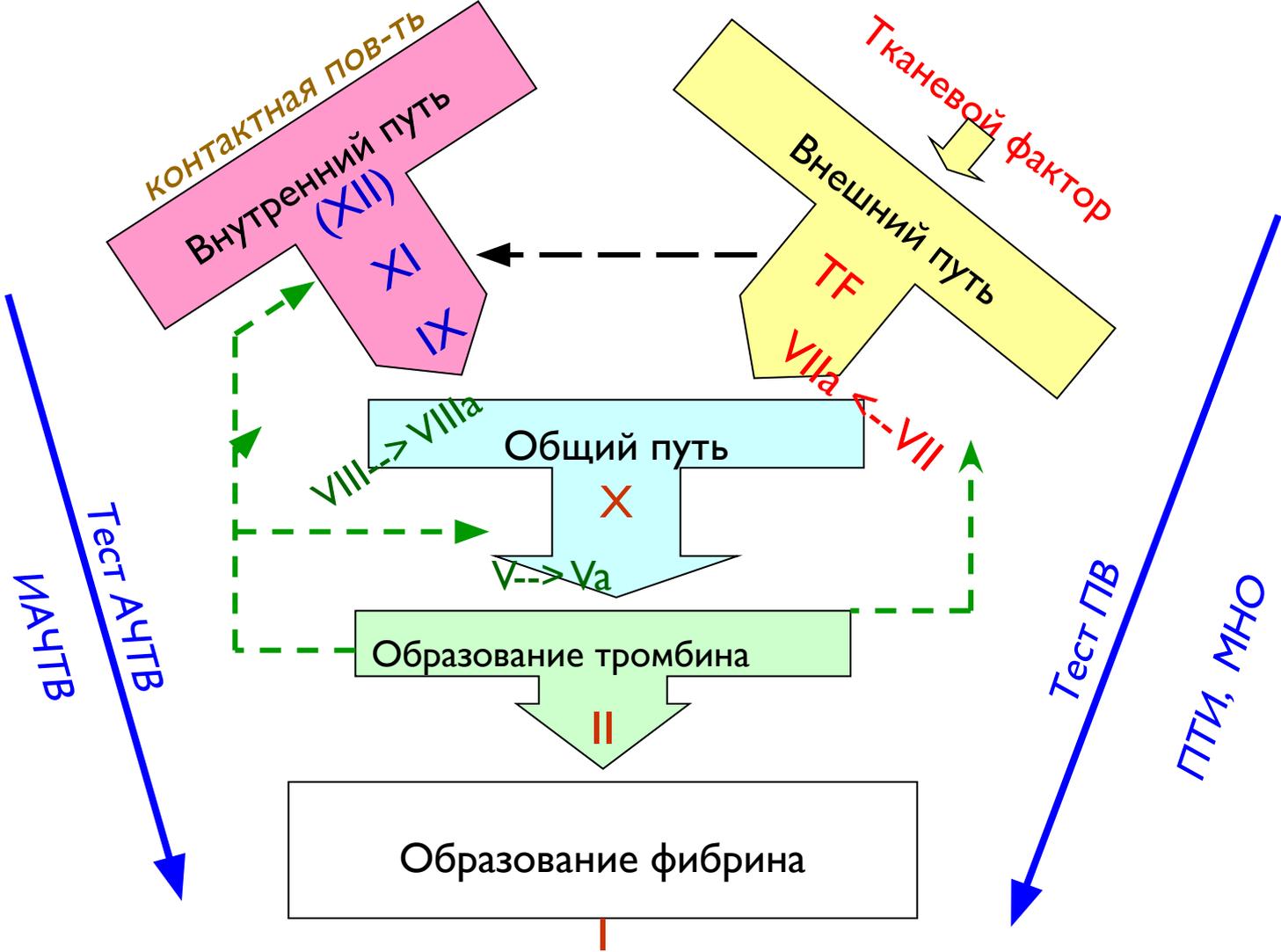
АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ



СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ (ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ)



Плазменный гемостаз



АЧТВ

- Данный тест является скрининговым для оценки внутреннего звена свертывания плазмы крови, чувствителен к дефициту всех факторов свертывания крови (исключение ф. VII), к гепарину, к специфическим ингибиторам (антитела к факторам VIII и IX) и неспецифическим ингибиторам (волчаночный антикоагулянт)

Укорочение АЧТВ (гиперкоагуляция по АЧТВ)

- Норма 0,8-1,2 Ед
- - активация внутреннего звена гемостаза (гиперкоагуляция)
- - гиперкоагуляционный синдром
- - ДВС – синдром (фаза гиперкоагуляции)

Удлинение АЧТВ (гипокоагуляция по АЧТВ)

- **Клиника - кровоточивости**

- - дефицит ф. VIII – гемофилия А
- - дефицит ф. IX – гемофилия В
- - дефицит ф. XI и XII (ПВ в норме)
- - гепаринотерапия
- - прием пероральных непрямых антикоагулянтов (ПВ удлинение)

Протромбиновое время (ПВ)

- Данный тест применяют для оценки нарушений активности факторов внешнего пути свертывания.
- - **оценка функций печени**
- - **мониторинг лечения непрямыми антикоагулянтами (варфарин)**

Укорочение ПВ (гиперкоагуляция по ПВ)

- - гиперкоагуляционный синдром (по внешнему пути)
- - ДВС – синдром (фаза гиперкоагуляции)

Удлинение ПВ (гипокоагуляция по ПВ)

- - дефицит или аномалия ф. VII, II, V, X
- - прием пероральных непрямых антикоагулянтов (варфарин)
- - гепаринотерапия (умеренное удлинение ПВ)
- - заболевания печени
- - ДВС-синдром (фаза гипокоагуляции)

Тромбиновое время (ТВ)

- Данный тест характеризует конечный этап процесса свертывания – превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина.

Укорочение ТВ (гиперкоагуляция по ТВ)

- - гиперкоагуляционный синдром
- - ДВС – синдром (фаза гиперкоагуляции)
- - гиперфибриногенемия (избыток фибриногена)

Удлинение ТВ (гипокоагуляция по ТВ)

- - гепаринотерапия
- - Активация фибринолиза (ДВС-синдром, фибринолитическая терапия, заболевания печени, поджелудочной железы) параллельно наблюдается повышение РФМК, Д-димеров
- - гипофибриногемия – если уровень ФБ ниже 1,0 г/л – подтверждается тестом на определение фибриногена

Фибриноген (норма 2-4 г/л)

- - Маркер состояния системы гемостаза
- - Умеренный маркер острого воспаления
- «Классически» при **гиперкоагуляционном синдроме** наблюдается: ↑ фибриноген
- ↓ АЧТВ, ПВ, ТВ

Повышение концентрации фибриногена (более 4,0 г/л)

- - инфекционные, воспалительные, аутоиммунные процессы
- - активация внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы, тромбоэмболии, ДВС-синдром – фаза гиперкоагуляции)
- - **нормально протекающая беременность**

РФМК

- Растворимые фибрин-мономерные комплексы – продукты деградации **ФИБРИНОГЕНА/ФИБРИНА** (норма до 4 мг). Коррелирует с уровнем фибриногена (**исключение ДВС-синдром**)
- **Повышение:**
 - - гиперкоагуляционный синдром
 - - ДВС-синдром
 - - аутоиммунные заболевания
 - - **нормально протекающая беременность**

Д-димеры

- Это продукты деградации **ФИБРИНА**, образующиеся в результате лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых фибринолитиков.
- **Повышение:**
- Активация свертывания крови (гиперкоагуляционный синдром - тромбозы, тромбоземболии, ДВС-синдром)
- **нормально протекающая беременность**



1

Лабораторные тесты при кровоточивости

Определение характера кровоточивости по клиническим проявлениям

Клинические проявления	Характер кровоточивости	
	Коагуляционный	Капиллярный
Гематомы (синяки)	Большие	Небольшие поверхностные
Гемартрозы	Часто встречаются у тяжело больных как основной признак	Не характерны
Петехии	Отсутствуют	Типичные проявления
Носовые кровотечения	Редко	Часто как основной вид кровотечений
Кровотечения при поверхностных травмах (порезах, ссадинах, царапинах)	Отсутствуют	Длительные
Кровотечения после экстракции зуба	Начинаются через несколько часов после операции и не останавливаются даже после тампонады лунки	Начинаются сразу после операции и обычно останавливаются после тампонады лунки
Послеоперационные кровотечения	Поздние, с образованием гематом	Кровотечения в основном во время операции
Характерные проявления при умеренной кровоточивости	Большие гематомы после тупых травм и опасные кровотечения после ранений с повреждением кожных покровов и операций	Носовые и маточные кровотечения

Функции какого звена нарушены?

- Коагуляционный тип кровоточивости
- Нарушения плазменно-коагуляционного звена

Капиллярный тип
кровоточивости

Нарушения механизмов
сосудисто-
тромбоцитарного звена

Поздние кровотечения характерны для коагулопатий, обусловленных дефектом плазменных факторов свертывания. **ОНИ ВОЗНИКАЮТ ЧЕРЕЗ НЕСКОЛЬКО ЧАСОВ ИЛИ СУТОК ПОСЛЕ**

ТРАВМЫ.

Грашин А.И., к.м.н.,
Карпищенко А.И., проф.

КРОВОТЕЧЕНИЯ НАЧИНАЮТСЯ ОБЫЧНО СРАЗУ ПОСЛЕ ТРАВМЫ (РАННИЕ) вследствие несостоятельности образования первичного тромбоцитарного тромба.

При склонности к кровотечениям МОЖНО:

1. Провести глобальный тест гемостаза - ВСК, АВС, тромбоэластометрия, тромбодинамика - экспресс-исследование, необязательный тест
2. Оценить тромбоцитарное звено гемостаза
3. Оценить коагуляционное звено гемостаза (АЧТВ, ПВ / ПО / МНО, фибриноген / ТВ)

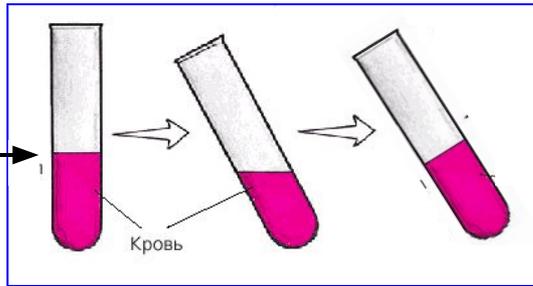


Время свертывания цельной крови (ВСК)

Тест по Ли-Уайту:

в стеклянной пробирке при комн. температуре – 6-11 мин.

Кровь
пациента



~~Методика
Сухарева
в капиллярах~~

Стандарты (-) контроли
(-) разброс результатов
(+)

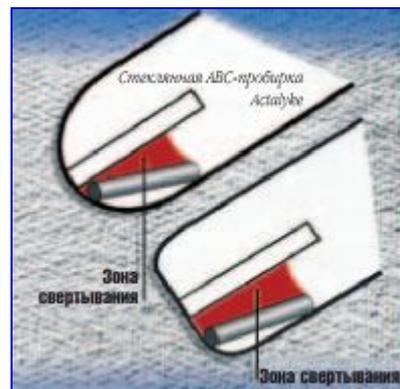


Основное применение теста ВСК –
экспресс-диагностика грубых
нарушений гемостаза вне КДЛ.

Активированное время
свертывания крови
(АВС, ВСКа, АСТ) -
интраоперационный
мониторинг гемостаза на
экспресс-анализаторах
(при работе на АИК).

Экспресс-коагулометры для определения АСТ

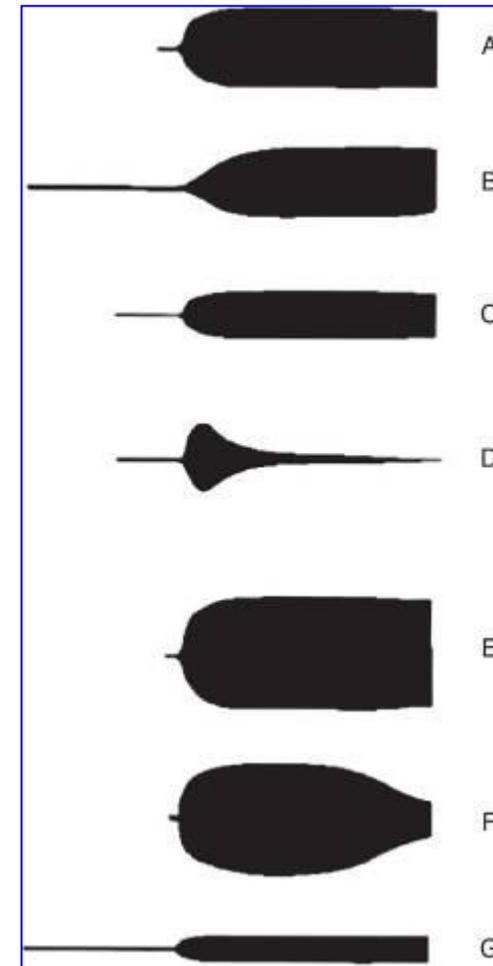
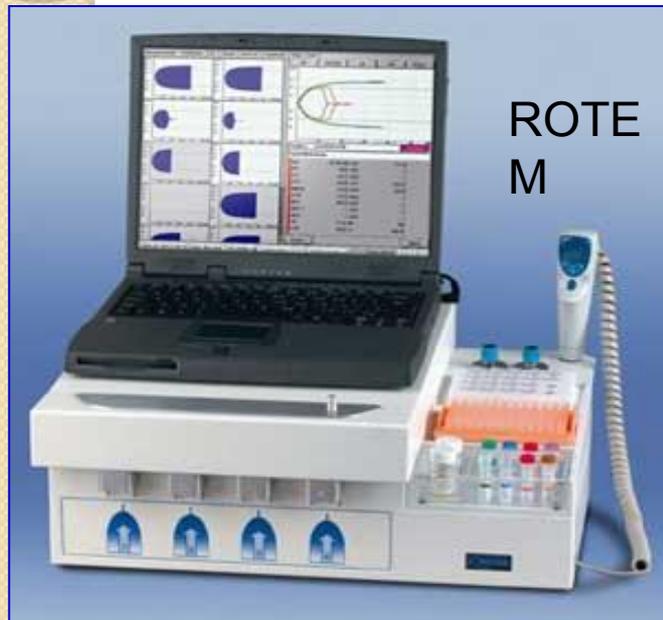
Неточрон (ITC)



Actalyke
(Helena)

Тромбоэластометрия / ТЭГ

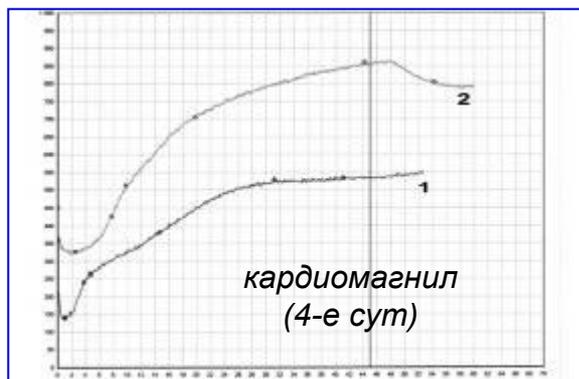
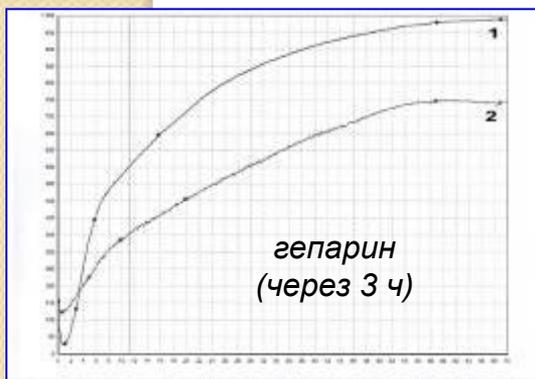
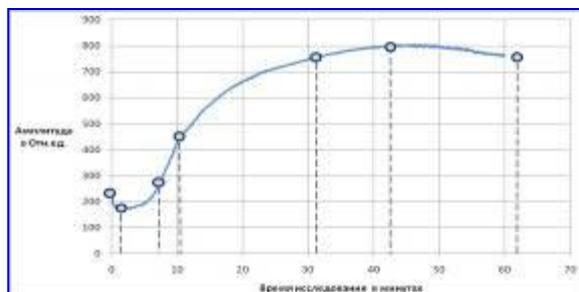
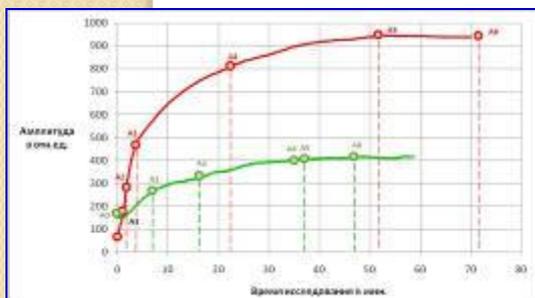
Измерение механических характеристик фибринового сгустка плазмы или цельной крови в процессе образования и лизиса



Время исследования – 10-15 мин

Стандартизация ? Контроли ?

Пьезокоагулография - АРП-01М «Меднорд»



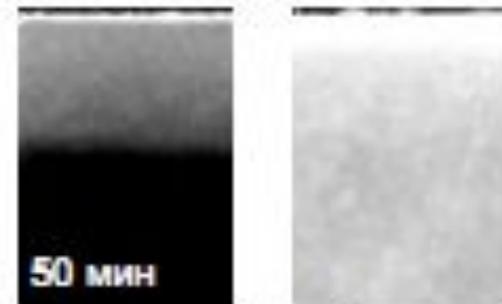
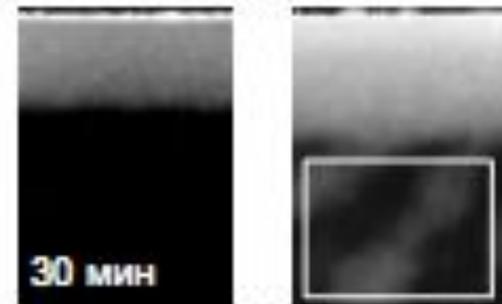
A0 – начальное агрегатное состояние крови
t1, ИКК – параметры контактной фазы коагуляции
КТА – тромбиновая активность
ВСК – время свертывания крови
ИКД – интенсивность коагуляционного драйва
ИПС – интенсивность полимеризации сгустка
T – время формирования фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка;
ИРЛС – интенсивность ретракции / лизиса сгустка.

Тромбодинамика - ГЕМАКОР

Схема проведения теста

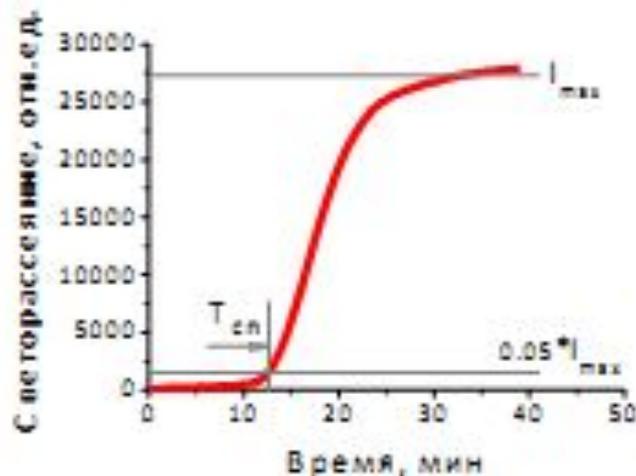


Фото растущего сгустка



Нормальный
рост сгустка

Гипер-
коагуляция



Тесты тромбоцитарного звена

ВНЕЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ

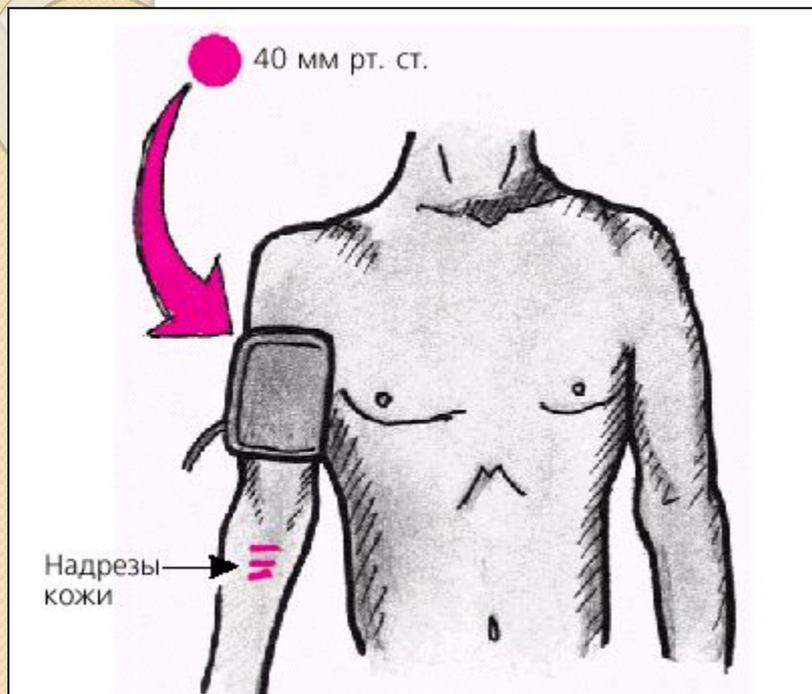
- ❖ Длительность кровотечения при стандартном проколе кожи по Duke, Ivy;
-

ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ

- ❖ Количество тромбоцитов - в крови с ЭДТА.
 - ❖ Адекватное перемешивание сразу после взятия.
Не охлаждать !!!
 - ❖ Активность тромбоцитов (агрегация) – по спонтанной / индуцированной агрегации.
-

Время кровотечения по Айви (Ivy)

Рефер. интервал - 2-5 мин, у детей 3-12 мин. Учет времени – до 15 мин.



Simplet II,
Triplett Bleeding
Time Device,
скальпель,
скарификатор...



Учитывать:

*t° воздуха, t° тела,
прием аспирина,
НСПВ, др. лек-в,
д-е алкоголя...*

Удлинение времени кровотечения - при ТЦ-пении, ТЦ-патии (нарушении агрегации ТЦ), болезни Виллебранда, васкулитах и др.

Укорочение времени кровотечения – **КЛИНИЧЕСКИ НЕЗНАЧИМО.**

Чувствительность метода невысока: длительность кровотечения может быть нормальной при ТЦ-пении (иногда до $50 \times 10^9/\text{л}$).

Время кровотечения по Айви (Ivy)

При нормальном числе тромбоцитов (150-350 тыс.) **УДЛИНЕНИЕ ВРЕМЕНИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПО АЙВИ** является признаком:

1. Тромбоцитопатий (б-нь Виллебранда, б-нь Бернара-Сулье)
2. Терапии НПВС, гепаринами, непрямыми антикоагулянтами
3. ДВС-синдром (гипокоагуляция)
4. Синдром массивных гемотрансфузий

Количество тромбоцитов

- ❖ В камере Горяева – недостаточная точность, возможно занижение результатов. CV - до 25-30%.
- ❖ На гематологическом анализаторе – точно, в стандартных условиях, быстро. Важно предотвратить агрегацию ТЦ и ЭР (перемешивание). CV реален = 1-2% - важно для оценки динамики количества ТЦ.



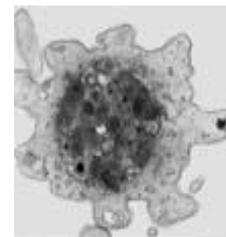
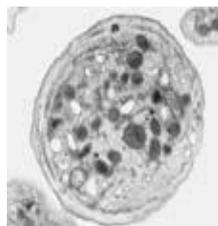
Тромбоцитопения

Наиболее частая причина кровотечений.

- ❖ ТЦ $< 100 \times 10^9/\text{л}$ => возможно удлинение времени кровотечения и излишняя кровопотеря при хирургических вмешательствах

Тяжелая ТЦ-пения

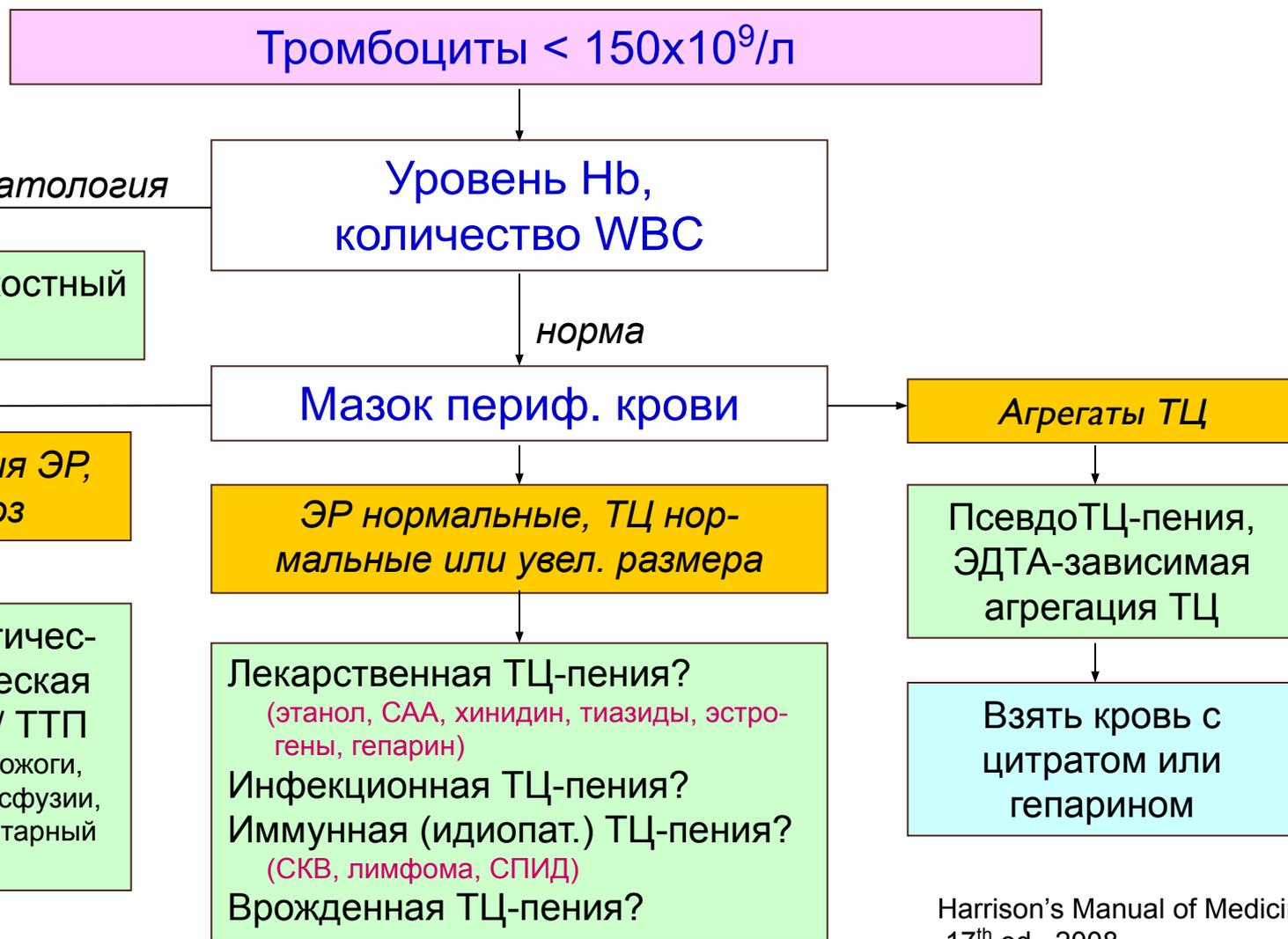
- ❖ ТЦ $< 50 \times 10^9/\text{л}$ => риск самопроизвольных геморрагий
- ❖ ТЦ $< 20 \times 10^9/\text{л}$ => высокий риск самопроизвольных кровотечений,
- ❖ ТЦ $< 10 \times 10^9/\text{л}$ => серьезные геморрагии (вплоть до фатальных).
- ❖ В костном мозге - \uparrow МКЦ (при разрушении ТЦ) или \downarrow МКЦ (при нарушениях продукции ТЦ).



Тромбоцитопения. Дифференциальная диагностика

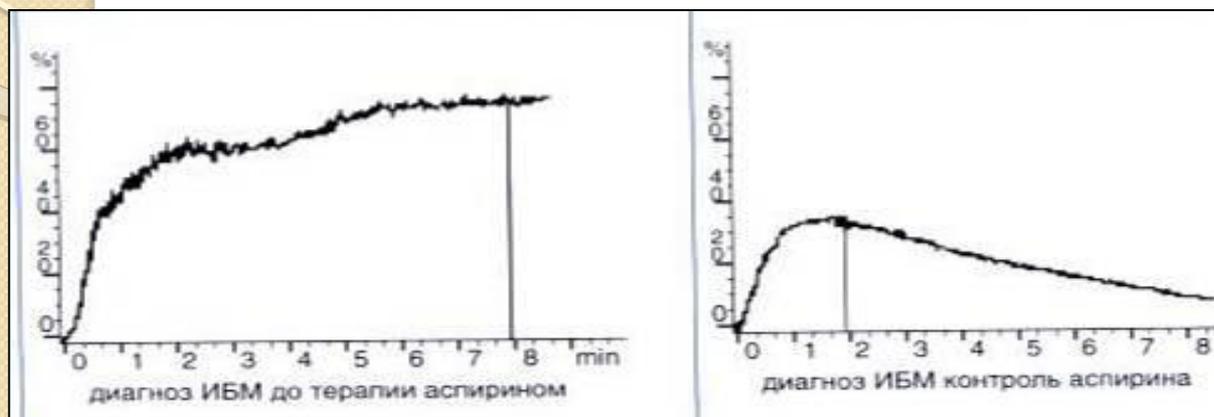
- **Исключаем:**
- 1. аплазию кроветворения (*анемия, агранулоцитоз*)
- 2. гемобластозы
- 3. В12-дефицитная анемия
- 4. миелодиспластический синдром
- 5. аутоиммунную патологию (СКВ, РА и др)
- 6. онкозаболевания (внутренних органов)
- 7. ДВС-синдром
- 8. прием лекарственных препаратов (**хинидин, сульфаниламиды, гипотиазид, антигистаминные, левомецетин, стрептомицин, цитостатики**)

Алгоритм лабораторного исследования при тромбоцитопении



Агрегация тромбоцитов

Учесть прием пациентом аспирина и НСПВ в предыд. 9 дней !



BIOLA – 230 LA



CHRONO-LOG 590



- Недостаточная стандартизация; несоответствие данных на разных приборах и разными методами.
- Очень большой вклад в результаты исследования вносят особенности и ошибки преаналитического этапа.

Оптические,
импедансные и
Люминесцентные
агрегометры

Нарушения агрегации тромбоцитов

- ❖ **Наследственные (врожденные) ТЦ-патии встречаются редко.**
 - ❖ Приобретенные нарушения агрегации тромбоцитов - довольно часто:
 - ❖ на фоне приема аспирина, НПВС и анальгетиков;
 - ❖ при лечении адреноблокаторами, антагонистами кальция, ксантинами и др., иногда - после приема алкоголя;
 - ❖ на фоне некоторых заболеваний (почечная недостаточность, гемобластозы, интоксикации и др.)
-

Тромбоцитоз – увеличение кол-ва тромбоцитов (более 350 тыс)

ПЕРВИЧНЫЙ

- Инфекционные заболевания
- Воспалительные заболевания
- Тромботические состояния
- Гематологические заболевания

ВТОРИЧНЫЙ

- Реактивный тромбоцитоз вследствие гематологических и негематологических заболеваний (**тяжелые кровотечения, дефицит Fe**, спленэктомия, острые и хронические заболевания, прием винкристина, адреналина)

Рикошетный

При восстановлении костномозгового кроветворения после приема цитостатиков

Тактика лечения тромбоцитоза

ПЕРВИЧНЫЙ ТРОМБОЦИТОЗ

- Антиагрегантная терапия
- Антикоагулянтная терапия
- Тромбоцитозферез
- Интерфероны
- Гидроксимочевина

Вторичный тромбоцитоз

- Лечение основного заболевания

Тесты ПВ и АЧТВ при кровоточивости

↑ ПВ (↓ % по Квику < 60-70%, ПТИ < 0,8; МНО > 1,2-1,5)

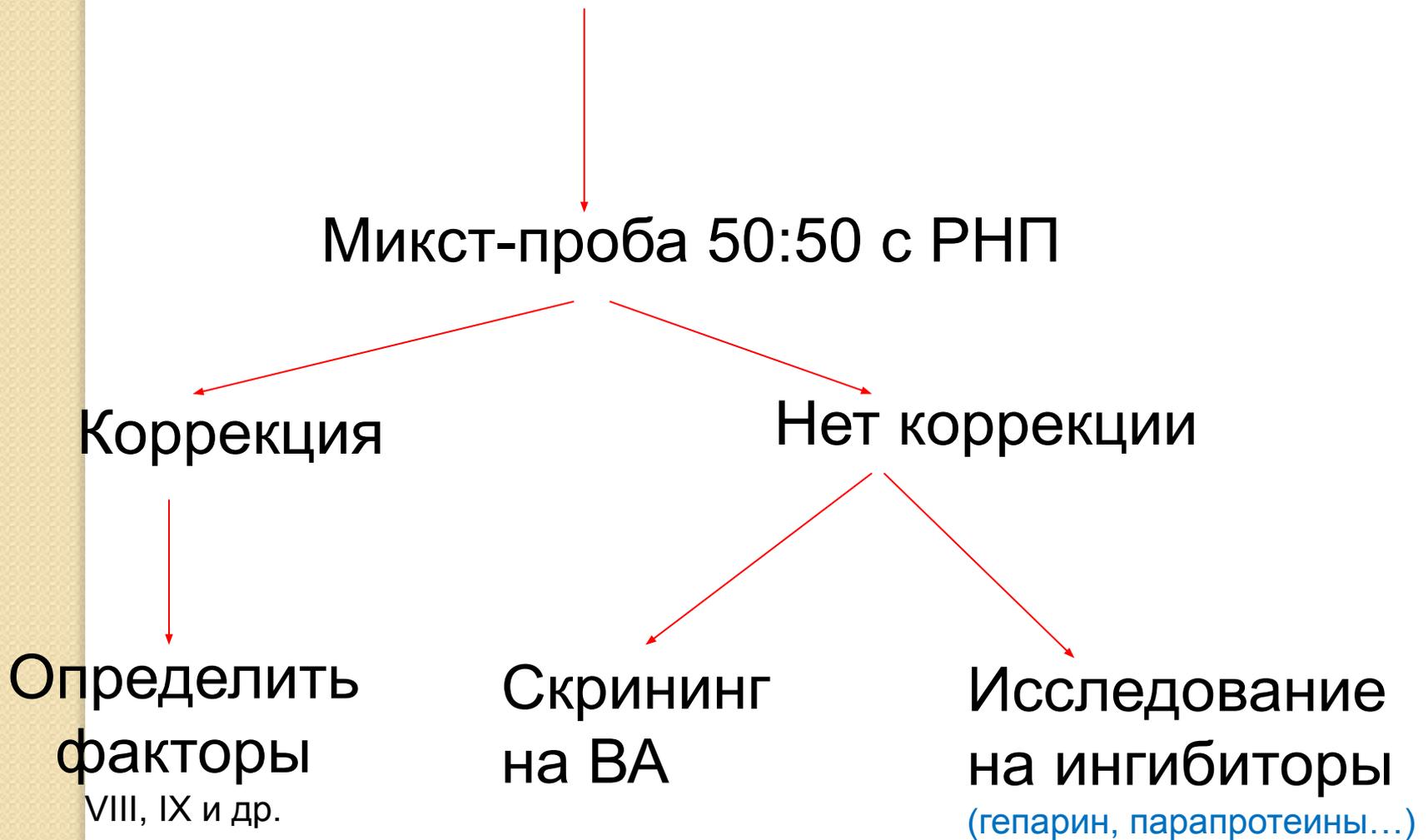
↑ АЧТВ, ИАЧТВ > 1,2 Не было ли гемодилуции ???

АЧТВ	ПВ (ПО, МНО)	Наиболее частая патология	
		врожденная	приобретенная
↑	Норма	Дефицит ф. VIII, IX, XI	Ингибитор ф. VIII Волчаночный антикоагулянт (кровоточивости нет)
Норма	↑	Дефицит ф. VII	Гиповитаминоз К (дефицит только ф. VII)
↑	↑	Глубокий дефицит фибриногена (<1 г/л) Дисфибриногемии Дефицит ф. II, ф. V, ф. X	ДВС крови Массивные трансфузии Тяжелая патология печени Недост-ть факторов (амилоидоз)
Норма	Норма	<u>Умеренная недоста-точность факторов</u> Болезнь Виллебранда (умеренной степени) Недостаточность ф. XIII	Тромбоцитопения Качественные нарушения ТЦ Приобретенная б-нь Виллебранда

Клинически наиболее часто встречаются приобретенные коагулопатии вследствие...

1. Массивной кровопотери
2. Появление специфических ингибиторов факторов свертывания крови (в результате аллоиммунизации, аутоиммунных заболеваний)
3. Приобретенного дефицита витамина К (**нарушение кишечного всасывания, недоедания, алкоголизма, приема кумаринов, антиконвульсантов, цефалоспоринов, бета-лактамов, антибиотиков, передозировки витамина Е, салицилатов, отравления ядами**)
4. У больных ХПН в результате использования гепарина
5. У больных при патологии печени
6. У онкобольных при обширном метастазировании

Удлинение АЧТВ / ПВ – что дальше?



Уровень фибриногена

Клоттинг-методика (на коагулометре). Норма 2-4 г/л.

- ↓ - гиперпотребление (ДВС, травмы, ожоги, состояние после кровотечения), шок, тяжелый токсикоз, лечение фибринолитиками);
- тяжелая патология печени ...

**«Гипокоагуляция» возможна при уровне фибриногена < 1,0 г/л
АЧТВ и ПВ НЕ ЗАВИСЯТ от уровня фибриногена (если он > 1-1,5 г/л).**

Тромбиновое время (ТВ)

«Фибриноген + антитромбины»

- ↑ - гипофибриногенемия (дисфибриногенемии)
- действие гепарина, ПДФ, парапротеинов...

Применение - для контроля терапии гепарином и фибринолитиками
- для дифференциации причин удлинения АЧТВ / ПВ

Лабор. тесты при болезни Виллебранда



Болезнь Виллебранда – обусловлена дефицитом плазменного белкового комплекса – фактора Виллебранда и фактора VIII, без которого нарушаются адгезивные свойства тромбоцитов.

Лабор. тесты при болезни Виллебранда

Клиника: рецидивирующие носовые, десневые кровотечения, кровотечения после удаления зубов, оперативных вмешательств, гематомы, гемартрозы крупных суставов.

Диагностика:

1. ристоцетин-кофакторная активность (vWF:RCo – на агрего-метре, реакция с ристомицином) **СНИЖЕНА**,
2. антиген фактора vWF: Ag – метод ИФА,
3. кол-во ТЦ (**в норме**), время кровотечения (**удлинено**), АЧТВ, ПВ, активность ф.VIII (**снижена**)...

Тактика лечения при болезни Виллебранда

- **Патогенетическое** – переливание донорских тромбоцитов (недостатком является аллоиммунизация и сокращение срока жизни тромбоцитов с нарушением их агрегационных свойств)
- **Специфическая гемостатическая терапия** – введение концентратов ф. Виллебранда, лиофилизированного концентрата ф. Виллебранда+ф.VIII, препарат **десмпрессин** (высвобождает ф.В. Из депо), **дицинон и местные гемостатики.**

Лабораторная оценка гемостаза при кровоточивости (USA)

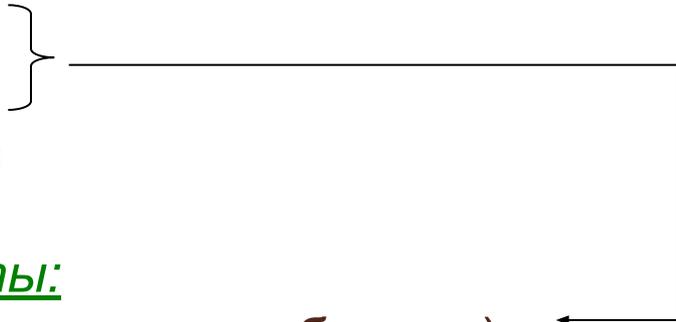
Внутр. путь гемостаза	АЧТВ
Внешний путь гемостаза	ПВ / ПО / МНО
Фибринообразование	Фибриноген, ТВ или рептилазное время
Активность факторов	ф. II + V + VII или X (на базе ПВ), ф. VIII + IX + XI или XII (на базе АЧТВ), ф. XIII
ингибиторы факторов	Микс-тесты ПВ / АЧТВ (с инкубацией), люпус-антикоагулянт, ингибиторы ф. VIII / IX
болезнь Виллебранда	Активность ф. VIII, vWF:RCo, vWF:Ag, кривая ответа на ристоцетин, мультимеры vWF
Функция тромбоцитов	Агрегация ТЦ с АДФ, адреналином, тромбином, коллагеном, арахидонатом, ристоцетином
Фибринолиз	Лизис эуглобулинов, PAI-1
ДВС	D-димер (колич.), АЧТВ, ПВ, фибриноген

Характерные результаты при кровоточивости

Методы исследования	Патология
Время кровотечения по Айви	Более 10-12 мин
Количество тромбоцитов в крови	Менее 80-100 тыс/мкл
АЧТВ	Гипокоагуляция
ПВ	Гипокоагуляция
Концентрация фибриногена в крови	Менее 1,0 г/л

ИТОГ: лабораторные тесты при кровоточивости

Скрининг:

1. Подсчет тромбоцитов — исслед-е ТЦ-пениии
 2. Время кровотечения
 2. АЧТВ (ИАЧТВ)
 3. ПВ (ПТИ, МНО)
 4. Фибриноген, (ТВ)
- 

Уточняющие тесты:

- ф.VIII и ф.IX (активность, ингибиторы)
 - агрегация тромбоцитов с АДФ, арахидонатом, ристомидином
 - фактор Виллебранда (кол-во, активность, мультимерность)
- 

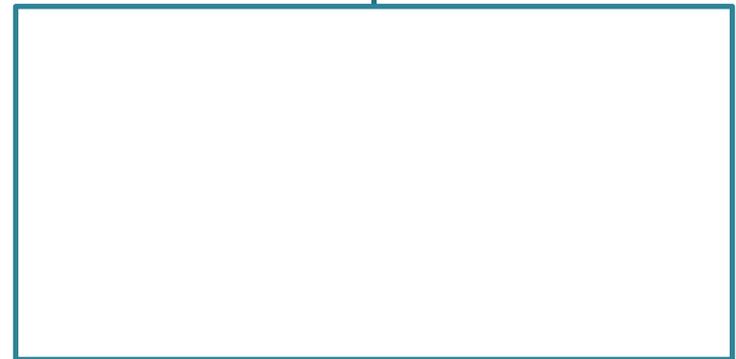
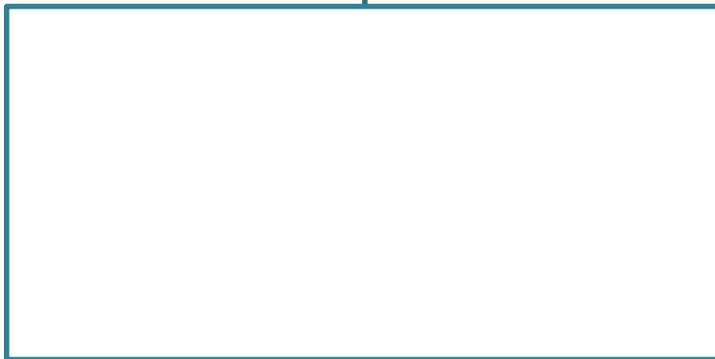
Дальнейшие тесты:

- дефицит ф. XIII ?
- гиперфибринолиз ? (t-PA, PAI-1, α_2 -AP)
- дисфибриногенемия ?

Варианты интерпретации

ПВ, АЧТВ, кол-во ТЦ,
фибриноген в норме

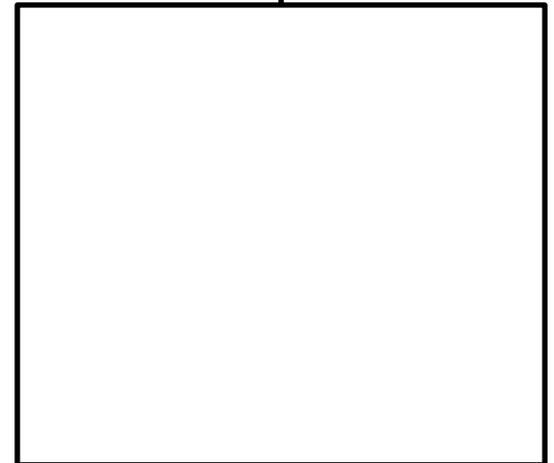
Увеличено время
кровотечения



Варианты интерпретации

Кол-во ТЦ, ПВ, фибриноген в
норме

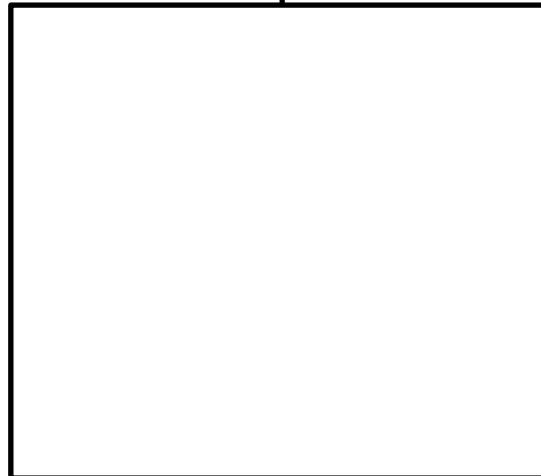
Увеличено АЧТВ



Варианты интерпретации

Кол-во ТЦ, АЧТВ,
фибриноген в норме

Увеличено ПВ



Варианты интерпретации

Кол-во ТЦ, ТВ, фибриноген в
норме

Увеличено АЧТВ, ПВ





2

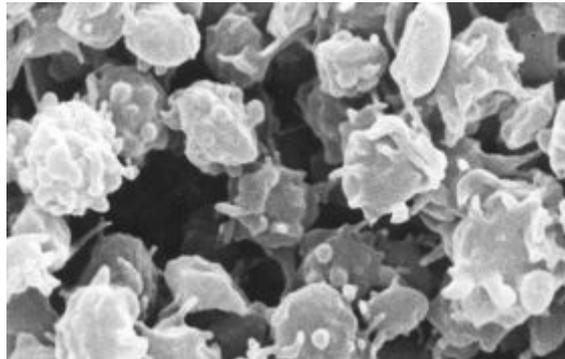
Лабораторное тестирование при
склонности к тромбозам

Тромбозы

Гиперактивность
тромбоцитов +
повреждение стенки
сосуда + стаз

Артериальные
тромбозы

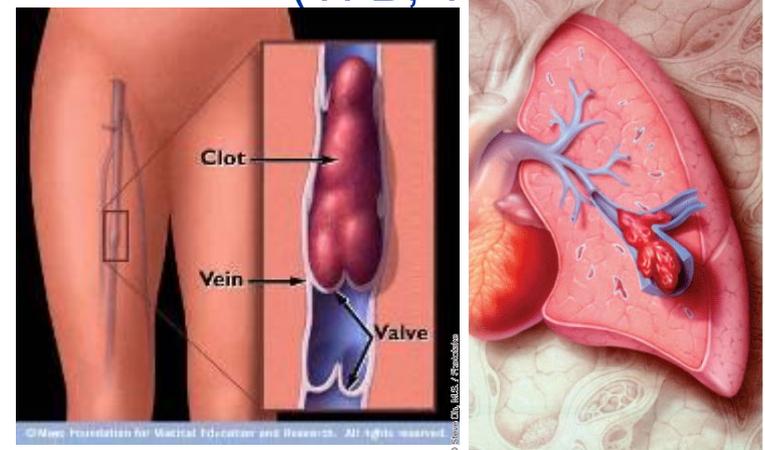
Атеротромбоз (ОИМ,
ОНМК,
ишемия сосудов ног...)



Гиперкоагуляция +
повреждение стенки
сосуда + стаз

Венозные
тромбозы

Венозный
тромбоэмболизм
(ТГВ, ТЭЛА)



Гиперкоагуляционные состояния / тромбофилии

Первичные (врожденные)

Тромбогенные мутации (Лейден G1591A, ф. II G20210A, MTHFR...)

Первичный дефицит антикоагулянтов (АТ III, ПрС, ПрS...)

Аномалии / гиперактивность прокоагулянтов (РАПС, ф. VIII...)

Вторичные

(на фоне заболеваний)

Операции (особенно на сердце, сосудах), тяжелые травмы костей, онкозаболевания и химиотерапия, гестозы, СКВ / АФС, нефротический синдром, атеросклероз, воспаление / сепсис, НИТ, выраженное ожирение...

- + гиперэстрогения (беременность, роды, послеродовый период до 4 нед, прием оральных контрацептивов)
- + ↑ гомоцистеина
- + курение...

тромбофилия ≠ гиперкоагуляция

**У 73% больных
с идиопатическим венозным тромбозом
имеет место генетическая тромбофилия
(одиночный или мультифакторный
генетический дефект)**

Наиболее частые генетические тромбофилии с увеличенным риском ТГВ / ТЭЛА

Вариант тромбофилии	У населения в целом, %	Относит. риск вен. тромбоза
Фактор V Лейден (FVL)	3-15	× 8
Мутация гена протромбина	2-3	× 3
Мутация MTHFR * C577T	10-20	× 1,5
Дефицит АТ III	0,02	× 25-50
Дефицит протеина С	0,2	× 10
Дефицит протеина S	0,08	× 2-10
+ Мутация гена PAI-1	?	-
+ Мутация гена фибриногена	?	-

Мамаев А.Н.,
2008

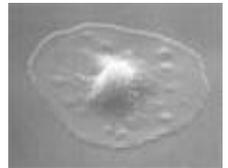
Что свидетельствует о склонности к тромбообразованию?

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- повторные эпизоды ТГВ, ТЭЛА, ОИМ, ОНМК и др.
- венозный стаз (беременность, иммобилизация, варикоз вен...)
- васкулиты, рак, миелопролиферативные заболевания
- прием оральных контрацептивов, длительное введение гепарина...

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- тромбоцитоз ($> 600 \times 10^9 / \text{л}$)
- выраженная гиперфибриногенемия ($> 6-8 \text{ г/л}$)
- присутствие ВА / антител к кардиолипину
- дефицит АТ III, ПрС, ПрS;
- избыток ф.VIII, РАПС
- тромбогенные мутации G1691A, G20210A...



Лабораторные маркеры активации гемостаза

Ранние маркеры тромбинообразования

- Фрагменты протромбина 1+2
- Комплекс тромбин-антитромбин

Непосредственно в момент образования сгустка

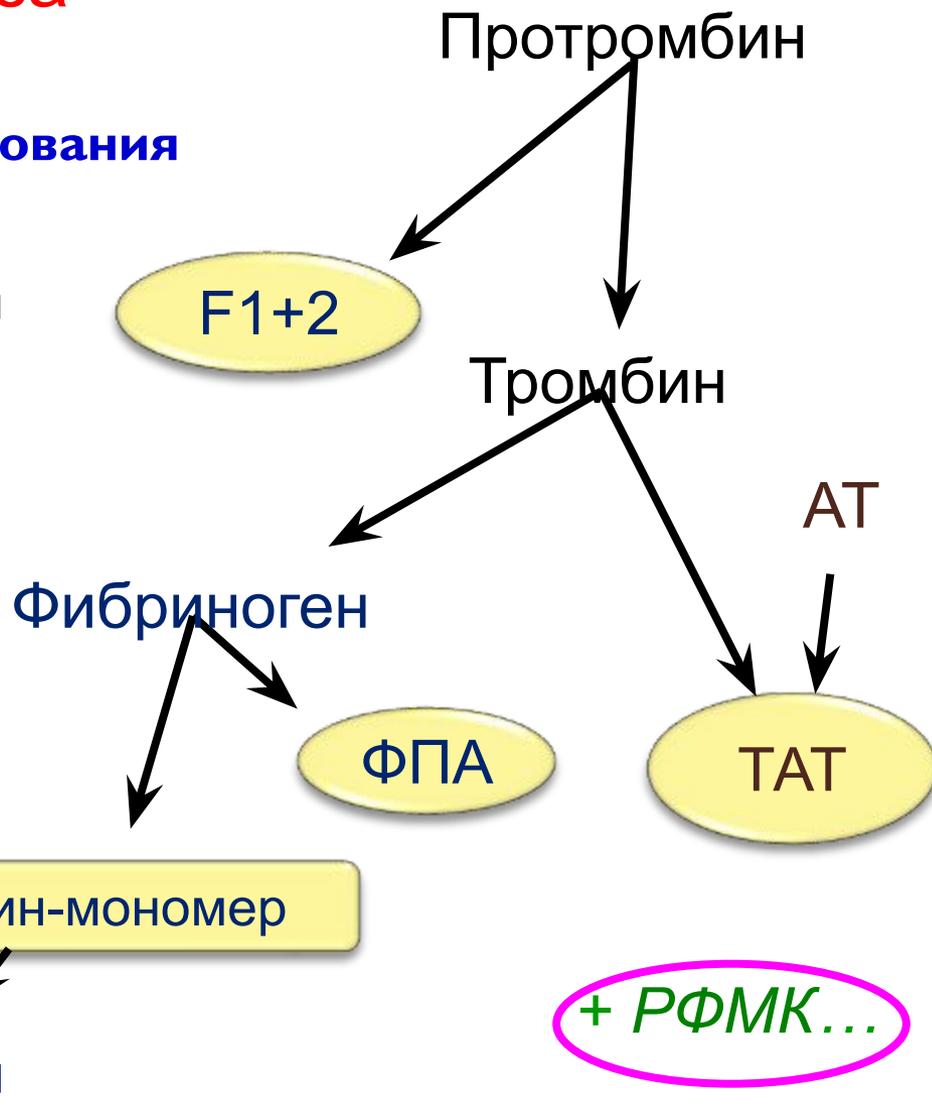
- Фибрин-мономеры
- Фибринопептид А

Поздний маркер

D-димер



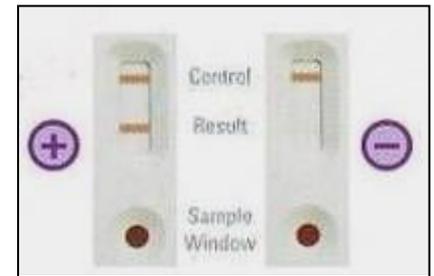
Фибрин



D-димер

В норме - $< 0,5$ мкг/мл FEU, $< 0,25$ мг/л DDU

- ❖ Наиболее надежный маркер образования / лизиса фибриновых сгустков.
- ❖ Определяется точными иммунологическими методами.
- ❖ Инерционный параметр ($T_{1/2} = 4-8$ ч).
- ❖ На результаты определения **мало влияют** техника взятия крови, примесь тромбоцитов и т.д.
- ❖ Маркер ТГВ/ТЭЛА с высоким отрицательным прогностическим значением



Нет D-димера = нет тромбов

Уровень D-димера может быть повышен:

- ❖ при инфекционных и воспалительных заболеваниях,
 - ❖ после травм и хирургических операций, особенно на крупных костях и суставах – *маркер риска послеоперационного тромбоза*,
 - ❖ при злокачественных новообразованиях,
 - ❖ при атеросклерозе и сахарном диабете - *признак активности процесса*.
-
- ❖ при беременности (до 3-4 раз),
 - ❖ в пожилом возрасте,
 - ❖ при малоподвижности и иммобилизации.
-

Клинические показания для определения уровня D-димера

1. **Исключение** тромбоза глубоких вен и ТЭЛА
(исследование D-димера + оценка клинической вероятности ТГВ/ТЭЛА позволяют на ~30% снизить назначение сложных инструментальных обследований больных)
2. **Исключение** синдрома ДВС
3. Прогнозирование течения заболеваний и опасности тромбоэмболических нарушений
4. Оценка «итоговой» эффективности антитромботической терапии

Антифосфолипидный синдром

АнтиФЛ антитела повреждают мембраны ТЦ и ЭНТ :

- подавляют активацию ферментных комплексов свертывания на ФЛ поверхности ТЦ (=> **гипокоагуляция**),
- снижают антикоагулянтный потенциал ЭНТ (=> **тромбозы**).

РЕЗУЛЬТАТ:

- *тромбозы in vivo* (малых и средних вен и артерий, ТЭЛА, привычное невынашивание беременности)
- *гипокоагуляция in vitro*. Кровоточивости нет !

Диагностика – АНАМНЕЗ + КЛИНИКА,

определение ВА + АКЛ +
анти- β_2 -ГП1 (anti- β_2 GPI)



Гипергомоцистеинемия

причины и последствия

- Дефицит витаминов B_{12} , фолиевой кислоты, B_6
- Некоторые заболевания (ХПН, гипотиреоз, онкология)
- Генетические дефекты ---> MTHFR

=> дисфункция эндотелия, $\uparrow\uparrow$ риск развития / прогрессирования:

- атеросклероза,
- артериальных (ОИМ, ОНМК) и венозных тромбозов (ТГВ),
- акушерских осложнений (невынашивание беременности, фетоплацентарная недостаточность, внутриутробная гипоксия плода),
- гомотистинурии (при тяж. форме)...

Определение уровня гомотистеина – ИФА, ИХЛ, иммунохроматография,

биохимические тесты. N = 5-15 мкмоль/л.

Лабораторная оценка гемостаза при склонности к тромбозам (USA)

РАПС (aPCR) *	+ мутация Лейден G1691A (ПЦР)
Люпус-антикоагулянт	LA-АЧТВ, dRVVT, микс-тесты
Антитела к кардиолипину *	IgM / IgG
Антитромбин III	Хромогенный метод, антиген АТ III
Гомоцистеин (натошак) *	Биохимический метод / ИФА
Активность ф. VIII	Клоттинговый / хромогенный метод
Активность протеина С	Хромогенный метод, антиген ПрС
Активность протеина S	Общий и свободный ПрS (антиген)
Мутация гена протромбина G20210A *	ПЦР-метод

* - селективный профиль тестов при эпизоде тромбоза, приеме АК во

время исследования или в последние 10-14 дней

Алгоритм диагностики причины венозного тромбоза (ARUP Labs, 2004)

Пациент < 50 лет с венозным тромбозом
(первый случай, или «семейный» тромбоз)



3

Лабораторные исследования при ДВС

(тромбогеморрагический синдром, базовые тесты)

1. Активация свертывания и фибринолиза

- D-димер, РФМК.

2. Потребление плазменных факторов

- **динамика** фибриногена, АТ-III, АЧТВ, ПВ, ТВ.

3. Клеточные маркеры ДВС

- **динамика** количества тромбоцитов и их спонтанной агрегации, умеренная анемия, шистоцитоз, фрагментация эритроцитов.

Лабораторное тестирование при приеме препаратов, влияющих на гемостаз

Основная цель: не допустить передозировки и развития
геморрагических осложнений.

Дополнительная цель: оценить эффективность терапии.

Требования к методам мониторинга действия лекарственных
препаратов:

оперативность, доступность, информативность, стандартизация

Факторы (rVIIa),
СЗП, криопреципитат,
тромбоцитарная масса...

Аминокапроновая к-та,
транексамовая к-та,
контрикал...

Прокоагу-
лянты

Антифибр
и-
нолитики

Нормаль
ный
гемостаз

При кровотечениях

При тромбозах

Антиагрег
анты

Антикоагу
-
лянты

Аспирин, Клопидогрель,
РеоПро, Эпифибатид...

Фибрино-
литики

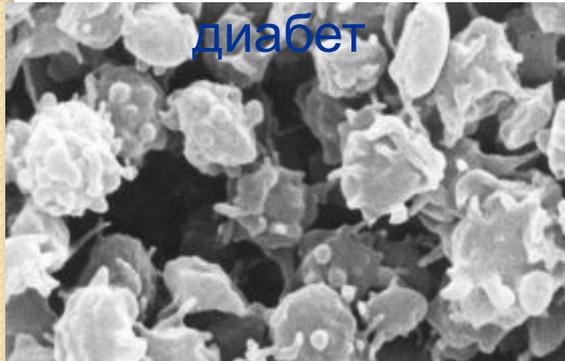
Гепарин, Варфарин,
НМГ, Дабигатран...

t-PA, стрептоки-
наза, урокиназа

Стратегия антитромботической терапии

Артериальные
тромбозы

Атеротромбоз (ОИМ,
ИИ,
критическая ишемия
сосудов ног), АФС,
диабет



Антиагреганты

+ антикоагулянты

Венозные
тромбозы

В СД
тромбоэмболизм
(ТЭЛА, ТГВ),
внутрисердечное
тромбообразование



Антикоагулянты

для снижения
фибринообразования,
профилактики эмболии

Лабораторный контроль терапии

Гепарин связывается с БОФ, PF4, макрофагами и др., и его действующая концентрация может снижаться

Эффективность гепарина (НФГ в терапевтических дозах):

1. АЧТВ (↑ в 1,5-2,5 раза от нормы), ТВ
2. АСТ / ВАС (*point-of-care*), ВСК

Дополнительные тесты, риск осложнений:

3. Динамика уровня D-димера / РФМК в плазме
 4. Количество тромбоцитов - опасность HIT ! (+ уровень анти-PF4)
 5. АТ III (не менее 70% !)
-

Лабораторный контроль терапии

Прямые ингибиторы тромбина (Лепирудин, Аргатробан; перор. – Дабигатран / Прадакса) – лабораторная оценка не требуется.

при ОПН / ХПН, ОПечН, тромбозе / кровотеч-и - ТВ с разведением, экариновое время, анти-ф.IIa-активность с калибровкой по Прадаксе

Прямые ингибиторы Ха (Фондапаринукс, перор. – Ривароксабан / Ксарелто) – лабораторная оценка не требуется (либо динамика D-димера)

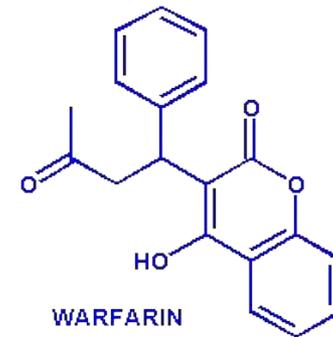
Низкомолекулярные гепарины (НМГ)

Можно оценить эффективность купирования тромбинемии

(D-димер, РФМК...), но не антикоагулянтное действие НМГ

Доза НМГ	Нужда в мониторинге	Показания к лабораторному контролю	Дополнительно
Терапевтическая – зависит от массы тела	<i>обычно нет,</i> возможно определение анти-Ха через 4 час после введения	Ожирение Почечная недостаточность (СКФ < 50-60 мл/мин)	Количество тромбоцитов на 5-7 сутки, затем каждые 7 дней
Профилактическая – фиксированная	<i>нет</i>	Длительное введение НМГ при лечении ТГВ	

Контроль за лечением АНД (варфарин)

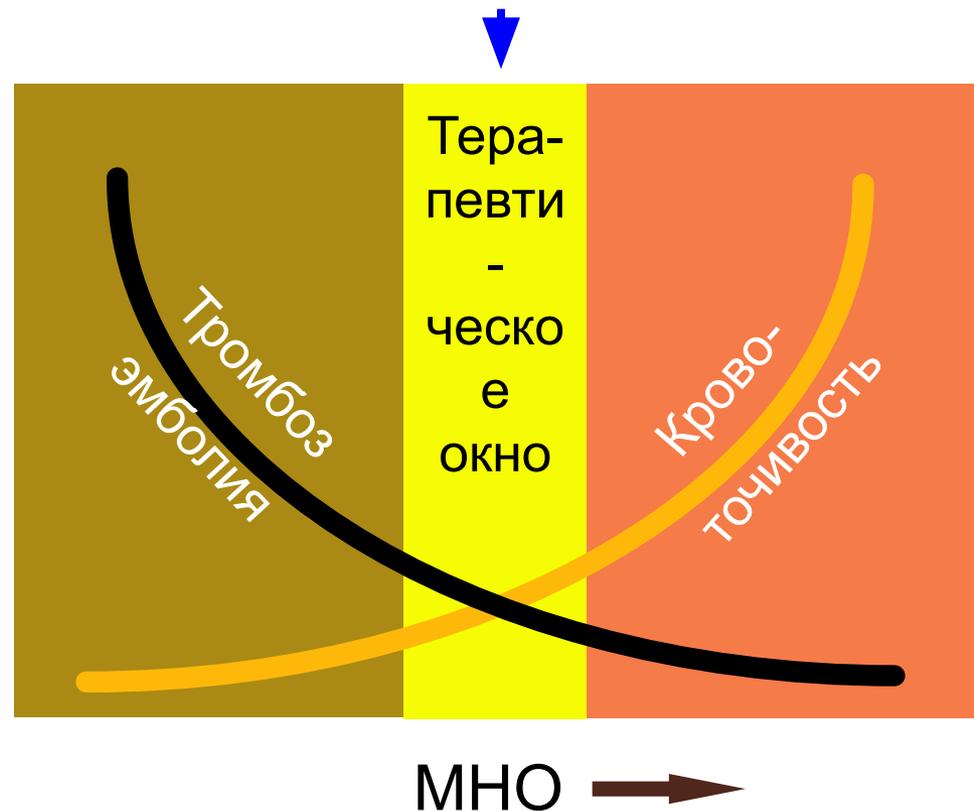


Эффективность препаратов:

- МНО со стандартизованным тромбопластином (МИЧ < 1,5)
(целевой уровень МНО - 2,0 – 3,0).

Дополнительно:

- АЧТВ (иАЧТВ ≤ 200 % !)
- D-димер / РФМК в динамике
- ПрС, ПрS (↓)
- (изоформы CYP2C9, VKORC1)



Контроль за лечением фибринолитическими препаратами

- Стрептокиназа (*Стрептаза, Авелизин*)
- Урокиназа (*проурокиназа*)
- Ацилированный комплекс плазминоген/стрептокиназа (APСAC)
- Тканевой активатор плазминогена (*Альтераза, Актилизе*)

Эффективность препаратов:

- D-димер / РФМК (быстрое нарастание уровня)
-
-

Предупреждение риска развития осложнений при приеме данных препаратов:

- Плазминоген (снижение; *уровень д.б. не менее 65 %*)
- Фибриноген (снижение; *уровень д.б. не менее 1,0-1,5 г/л*)
- АЧТВ (удлинение)

Контроль за лечением антиагрегантами

Ингибиторы ЦОГ-1 (аспирин, кардиомагнил, тромбо АСС)

Блокаторы АДФ-рецепторов (клопидогрель, тиклопидин)

Ингибиторы фосфодиэстеразы тромбоцитов (дипиридамол)

Блокаторы тромбоцитарных рецепторов IIb/IIIa (абциксимаб)

В большинстве случаев лабораторного тестирования не требуется.

Эффективность препаратов:

- Агрегация ТЦ с арахидонатом / АДФ / TRAP / адреналином на оптических / импедансных агрегометрах, включая РОС-тесты на аппаратах VerifyNow, Multiplate...*
-

Тесты лабораторной оценки гемостаза

Рекомендации Всероссийской Ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А.В.Шмидта – Б.А.Кудряшова, 2011 г (пересмотр).

Оценочные (скрининговые) тесты – лаборатории первичного звена

Количество тромбоцитов, время кровотечения (только при подготовке к операциям на ЛОР-органах у детей, при геморрагиях и подозрении на недостаток гемостаза),
АЧТВ, ПВ (МНО), уровень фибриногена, D-димер

Дополнительные тесты

При кровоточивости

Время кровотечения
Кол-во ТЦ, индуцированная агрегация ТЦ
Фактор Виллебранда (акт-ть и АГ)
АЧТВ, ПВ, фибриноген
Факторы VIII, IX и др., их ингибиторы
Лизис эуглобулинов
Микст-пробы с РНП и дефиц. плазмами

При артер. / венозн. тромбозах

Количество тромбоцитов
АТ III, ПрС, ПрS, аРС-резистентность
Генетич. тестирование на мутацию гена ф.V (Leiden) и гена протромбина
D-димер, ф.VIII, vWF (антиген)
Гомоцистеин (в динамике)
Волчаночный АК (>2 раз, через 12 нед),
АТ к β_2 -ГП 1

Важнейшие причины расстройств гемостаза

Кровоточивость

Дефекты ТЦ звена

Дефицит плазменных коагуляционных факторов и vWF

Действие антикоагулянтов

Нарушение сосудистой стенки

Гиперактивный фибринолиз



Тромбозы

Избыток и/или гиперактивность плазменных факторов

Дефицит первичных антикоагулянтов

Повреждение тканей (вкл. хирургические вмешательства)

Обездвиженность

Онкология