

УДК 612.115.2

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

А.В. Алешковский,
ТОО «НПФ «Медилэнд»
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Изучение механизмов свертывания крови и их регуляции невозможно без использования лабораторных исследований. На сегодняшний день известны практически все факторы, принимающие участие в свертывании крови. Открыты их первичная, вторичная и третичная структуры. Обнаружены и расшифрованы гены, ответственные за формирование этих факторов. В тоже время, в повседневной практике изучение процесса гемокоагуляции в организме человека осуществляется с помощью лабораторных методов, которые далеко не всегда совершенны.

Ключевые слова: гемостаз, коагулометрия, плазменный гемостаз, Протромбиновое время, АЧТВ, Фибриноген, ДВС-синдром, Д-Димер, скрининговые тесты.

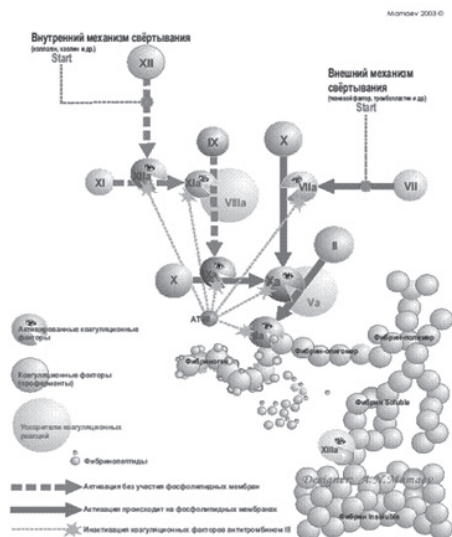


Рисунок 1

Гемостаз - это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой стороны - остановку кровотечения при повреждении кровеносных сосудов. Органы и ткани, участвующие в выполнении этих функций, образуют систему гемостаза.

Гемостаз - это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой стороны - остановку кровотечения при повреждении кровеносных сосудов. Органы и ткани, участвующие в выполнении этих функций, образуют систему гемостаза.

Изменения в системе гемостаза могут стать причиной развития как геморрагических, так и тромботических состояний, которые возникают у пациен-

тов с самыми разными заболеваниями.

Лабораторная диагностика состояния системы гемостаза - важнейший фактор эффективности лечения многих заболеваний и снижения смертности населения. В свою очередь, современная лабораторная диагностика основана на понимании общепатологических закономерностей функционирования системы гемостаза и выбора адекватных методов их оценки.

В основе использования лабораторных исследований необходимо основываться на современных представлениях о механизме свертывания крови.

Первый этап обследования системы гемостаза должен включать в себя ориентировочные тесты коагулограммы, отражающие состояние целых звеньев системы гемостаза, - скрининговые тесты: время кровотечения, количество тромбоцитов, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена (определенного по методу Клаусса), РФМК (растворимые фибрин-мономерные комплексы), Д-димер.

ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА

При помощи таких тестов как: АЧТВ, ПВ, тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена, РФМК и Д-Димеры можно получить достаточно общее представление о свертывающем и противосвертывающем потенциале крови пациента. Скрининговые тесты используются также и для контроля антикоагулянтной терапии. Однако и первичный диагностический скрининг возможно дополнить маркерами, специфичными для определенной категории пациентов.

Нормальные результаты АЧТВ и ПВ, отражаю-

щих активацию по внешнему и внутреннему пути свертывания крови, позволяют исключить наличие значительных дефектов большинства плазменных компонентов этой системы. Исключение составляет фактор XIII, дефицит которого в этих тестах не проявляется, но может быть причиной кровоточивости и медленного заживления ран. Направление дальнейших исследований зависит от клинических показаний.

АЧТВ тест является одним из самых информативных скрининговых тестов, используется для оценки внутреннего (тромбоцитарно-сосудистого) звена свертывания плазмы крови.

Так, укорочение АЧТВ свидетельствует об активации внутреннего звена гемостаза (гиперкоагуляции), наблюдается при гиперкоагуляционном синдроме, ДВС- синдроме (фаза гиперкоагуляции).

Удлинение АЧТВ свидетельствует о возможном дефиците факторов внутреннего звена гемостаза, а именно:

- дефиците ф. VIII (гемофилия А), ф. IX (гемофилия В), ф. XI, ф. XII - при нормальных результатах ПТВ;
- дефиците ф. II, ф. V и ф. X при одновременном удлинении АЧТВ и ПТВ;
- ДВС-синдроме (фаза гипокоагуляции);
- дефиците ф. Виллебранда. При клинике кровоточивости необходимо дополнительное исследование способности тромбоцитов к адгезии и агрегации с различными стимуляторами (АДФ, коллаген, ристомицин, адреналин), определение активности ф. Виллебранда, ф. VIII;
- наличии волчаночного антикоагулянта (ВА) - при клинике тромбозов или подозрении на тромбофилию, необходимо проведение анализа на ВА;
- гепаринотерапии (выявляется при анамнестическом анализе сопутствующей терапии). Обычно наблюдается выраженное удлинение АЧТВ;
- приеме оральных непрямых антикоагулянтов (выявляется при анамнестическом анализе сопутствующей терапии). Обычно наблюдается умеренное удлинение АЧТВ с выраженным удлинением ПТВ.

Протромбиновое время (ПТВ) - этот тест является одним из основных базовых тестов, используемых в повседневной клинической практике. Тест ПТВ используют для выявления нарушений активности факторов внешнего пути свертывания - определяет активность факторов протромбинового комплекса: ф. II (протромбин), ф. VII (прокон- вертин), ф. X (Стюарта), ф. V (проакселерин); для оценки функции печени, а также для контроля над лечением антикоагулянтами непрямого действия (расчет ведется по Международному нормализованному отношению - МНО).

Так, укорочение ПТВ свидетельствует об активации внешнего звена гемостаза (гиперкоагуляции) при гиперкоагуляционном синдроме, ДВС-синдроме.

Удлинение ПТВ свидетельствует о возможном дефиците факторов внешнего звена гемостаза:

- дефиците или аномалии факторов протромбинового комплекса (VII, II, X) в случаях приема оральных

непрямых антикоагулянтов, дефиците ф.V;

- гепаринотерапии (выявляется при анамнестическом анализе сопутствующей терапии);
- заболеваниях печени, желчного пузыря (в этом случае анамнестические, клинические, лабораторные и инструментальные данные позволяют поставить точный диагноз);
- ДВС-синдроме (фаза гипокоагуляции).

Тромбиновое время (ТВ) - характеризует конечный этап процесса свертывания - превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина, на него влияет концентрация фибриногена в плазме и наличие продуктов деградации фибрина.

Удлинение тромбинового времени может быть вызвано молекулярными аномалиями и снижением уровня фибриногена (менее 1,0 г/л), избытком в крови гепарина в результате гепаринотерапии, накоплением продуктов деградации фибрина, парапро-теинемией, наследственной и приобретенной дисфибриногенемией, наличием ингибиторов тромбина и фибриногена.

Так, укорочение ТВ свидетельствует о возможной активации системы гемостаза

- гиперкоагуляции - гиперкоагуляционном синдроме, ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза), гиперфибриногенемии.

Удлинение ТВ свидетельствует о таких фактах, как:

- гепаринотерапия (выявляется при анамнестическом анализе сопутствующей терапии). Обычно наблюдаются умеренное удлинение ПТВ с одновременным выраженным удлинением АЧТВ;
- активации фибринолитической системы крови при различных состояниях - ДВС-синдроме, тромболитической терапии, заболеваниях печени, поджелудочной железы и др. (выявляется при анамнестическом анализе сопутствующей терапии и заболеваний). В этом случае, обычно, наблюдается повышение ПДФ и Д-димера в крови;
- гипофибриногенемии - если уровень фибриногена в крови ниже 1,0 г/л (подтверждается анализом на количественное определение фибриногена).

Фибриноген - количественный анализ фибриногена по методу Клаусса - является базовым тестом исследования гемостаза (нормальный уровень фибриногена в плазме крови составляет 1,8-4,0 г/л). Проводится при гиперфибриногенемиях, связанных с тяжестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, с риском развития артериальных тромбозов и инфарктов органов. Снижение концентрации фибриногена наблюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожденных гипо- и дисфибриногенемиях.

Повышение уровня фибриногена свидетельствует о возможном развитии инфекционных, воспалительных или аутоиммунных процессов. В этом случае анамнестические, клинические, лабораторные и инструментальные данные позволяют выявить первопричину гиперфибриногенемии, в частности при гиперкоагуляционном синдроме в случае сочетания

повышенного уровня фибриногена с укорочением АЧТВ, ПВ, ТВ.

Снижение уровня фибриногена в крови характерно для гипофибриногенемии при развитии острого ДВС-синдрома.

РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы, которые образуются в процессе деградации молекул фибриногена/фибрина под действием тромбина и плазмина (нормальный уровень РФМК в плазме крови – менее 4 мг/100мл).

РФМК – это один из ранних маркеров тромбинемии – активации внутрисосудистого свертывания крови. Повышение РФМК характерно при развитии гиперкоагуляционного синдрома, ДВС-синдрома, аутоиммунных заболеваний и др. Однако к интерпретации повышения уровня РФМК нужно подходить с осторожностью, поскольку уровень их зависит от концентрации фибриногена, и в норме некоторое их количество всегда определяется в кровотоке, коррелируя с уровнем фибриногена. При ДВС-синдроме возникает парадоксальная ситуация нарастания РФМК при наличии гипофибриногенемии, что само по себе является диагностическим признаком.

Д-димеры – специфические продукты деградации фибрина. Они образуются в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых неспецифических фибринолитиков.

С помощью анализа Д-димера в крови можно оценить, как происходит процесс образования и распада фибрина – тромбообразование и фибринолиз. Исследование этого показателя применяется при диагностике тромботических состояний, тромбозе глубоких вен, легочной эмболии, ДВС-синдроме и при осложнениях беременности.

Повышенный Д-димер характерен для массивных поражений тканей, обширных гематом, хирургических вмешательств, беременности (к концу срока уровень Д-димера в 3-4 раза превышает норму), у лиц старше 80 лет.

Д-димер может быть признаком серьезных заболеваний:

- тромбоз глубоких вен
- ДВС-синдром
- легочная тромбоэмболия
- инфекционные заболевания, сепсис
- онкологические заболевания
- болезни печени
- ишемическая болезнь сердца (в том числе и инфаркт миокарда), сердечная недостаточность.

Норма Д-димера: <248 нг/мл

Д-димеры достаточно долго циркулируют в крови, время их полувыведения составляет более 24 ч, повышение Д-димеров может наблюдаться в течение нескольких недель после острого тромбоза.

Для улучшения качества исследования системы гемостаза важно придерживаться следующих принципов. После оценки клинического состояния пациента и при малейшем подозрении на тромбгеморрагиче-

ские заболевания, проводится лабораторная диагностика системы гемостаза, которая включает в себя 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 над лечением антикоагулянтами непрямого действия. Целесообразно отказаться от дублирующих или малоценных, а также устаревших и неточных методов исследования (аутокоагуляционный тест, определение времени рекальцификации, Фибриноген В, этаноловый тест, протаминсульфатный тест, концентрация фибриногена в плазме по Р.А.Рутберг и др.). Использование производительных и высокоточных (по сравнению с мануальными определениями) коагулометров, таких как ACL Elite PRO, ACL TOP 300 и др., а также стандартизированных расходных материалов, производства фирмы Instrumentation Laboratory (США), является предпочтительным.

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Преаналитический этап в гемостазиологии

Ложные результаты клинических лабораторных исследований в большинстве случаев обусловлены ошибками на преаналитическом этапе.

К основным источникам ошибок ПЭ в гемостазиологии относятся:

- неправильное применение антикоагулянта, отличного от цитрата натрия;
- неполное заполнение вакуумной системы для взятия крови (<90%);
- отклонение от соотношения объемов кровь/антикоагулянт 9:1;
- гемолиз в пробе;
- неполное смешивание крови с антикоагулянтом;
- хранение крови в охлажденном состоянии;
- самостоятельное изготовление ряда реагентов (раствор кальция хлористого) или использование продающихся в аптеках реагентов (с неточной концентрацией);
- наличие сгустка в пробе.

К основным требованиям, обеспечивающим правильность тестирования показателей гемостаза на ПЭ, относятся:

- атравматическая флеботомия без (или с минимальным) наложением манжеты;
- полное заполнение пробирки кровью в соответствии с объемом антикоагулянта;

- использования 3,2% (0,109 M) трехзамещенного двухводного цитрата натрия;
- полное и осторожное смешивание крови и антикоагулянта;
- транспортировка проб крови при комнатной температуре (18-25°C);
- получение бестромбоцитной плазмы центрифугированием крови в течение 1 часа после взятия;
- использование в работе контрольных материалов и реагентов, производителей мирового уровня, таких как Instrumentation Laboratory (США);
- как можно более быстрое тестирование плазмы после центрифугирования.

Таким образом, на сегодняшний день в области исследований плазменного гемостаза представлены технологии, позволяющие получить качественный, достоверный и точный результат, за короткое время, минимизируя влияние человеческого фактора. Учитывая, что стандартизация проводимых исследований, уменьшение количества анализов, проводимых ручным методом, устранение в ходе измерения различных факторов, оказывающих влияние на предоставляемые данные, позволяет значительно повысить качество результатов, внедрение автоматических коагулометров в рамках развития лабораторной службы Республики Казахстан представляется весьма перспективным.

ТҮЙІНДЕМЕ

ЗЕРТХАНАЛЫҚ ДИАГНОСТИКА ЖҮЙЕСІНДЕГІ ГЕМОСТАЗДЫҢ ЖАҢА ТЕХНОЛОГИЯСЫ

А.В. Алешковский
ЖШС, ГӨФ «Медилэнд»
Қазақстан, Алматы

Қанның үю процесі мен реттелу механизмін лабораториялық зерттеусіз мүмкін емес. Осы күнге дейін, қан үюға қатысатын факторлардың барлығы мәлім. Олар біріншілік, екіншілік, үшіншілік деп құрылымдарға бөлінеді. Осы факторларды түзілуіне септік тигізетін гендер табылып және анықталып зертелінді. Сол уақытта, күнделікті практикада кездесетін адам ағзасына гемокоагуляция процесін лабораториялық әдістермен орындалатыны әр дайым емес.

Түйін сөздер: гемостаз, коагулометрия, плазмалық гемостаз, Протромбиндік уақыт, АЧТВ, Фибриноген, ДВС-синдром, D-Димер, скрининг тесттері.

SUMMARY

MODERN TECHNOLOGY IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF HEMOSTASIS

A.V. Aleshkovsky,
LLP "NPF "Mediland"
Kazakhstan, Almaty

Studying of mechanisms of a fibrillation and their regulation is impossible without use of laboratory researches. Today practically all factors which are taking part in a fibrillation are known. Their primary, secondary and tertiary structures are open. The genes responsible for formation of these factors are found and deciphered. In too time in daily practice studying of process of haemo coagulation in a human body is carried out by means of laboratory methods which aren't always perfect.

Keywords: hemostasis, koagulometriya, plasma hemostasis, PT, APTT, Fibrinogen, DVS-syndrome, D-Dimer, screening tests.

Статья основана на материалах производителя - компании Instrumentation Laboratory, США.