

Оглавление

| | |
|---|----|
| Список сокращений | 8 |
| Введение | 9 |
| Глава 1. Физиология системы гемостаза | 11 |
| 1.1. Тромбоциты..... | 12 |
| 1.2. Сосуды..... | 18 |
| 1.3. Коагуляционные факторы | 21 |
| 1.4. Субстратный протеин фибриноген..... | 25 |
| 1.5. Физиологические антикоагулянты..... | 27 |
| 1.6. Фосфолипиды..... | 32 |
| 1.7. Основы реализации гемостатической функции..... | 33 |
| 1.8. Механизмы фибринолиза..... | 36 |
| 1.9. Механизмы ограничения тромбообразования..... | 38 |
| 1.10. Механизмы ретроградной активации коагуляционных факторов | 39 |
| Литература..... | 40 |
| Глава 2. Клинические проявления дисфункции системы гемостаза | 42 |
| 2.1. Геморрагический синдром..... | 42 |
| 2.2. Тромбозы, тромбоземболии, понятие о тромбофилическом состоянии..... | 56 |
| 2.3. Антифосфолипидный синдром | 63 |
| 2.4. ДВС-синдром..... | 66 |
| Литература..... | 71 |

| | |
|---|-----|
| Глава 3. Методы исследования тромбоцитарного гемостаза | 76 |
| 3.1. Число тромбоцитов (микроскопический метод)..... | 76 |
| 3.2. Длительность кровотечения (метод Айви)..... | 81 |
| 3.3. Исследование агрегационной функции тромбоцитов | 86 |
| 3.4. Антиген фактора Виллебранда (vWF:Ag)..... | 96 |
| 3.5. β -тромбоглобулин | 105 |
| 3.6. 11-дегидротромбоксан V_2 | 108 |
| Литература..... | 111 |

| | |
|--|-----|
| Глава 4. Методы обнаружения дисфункции коагуляции | 114 |
| 4.1. Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ-тест)..... | 114 |
| 4.2. АПТВ смеси исследуемой плазмы с нормальной бедной тромбоцитами плазмой..... | 118 |
| 4.3. Протромбиновый т ест | 121 |
| 4.4. Протромбиновое время смеси исследуемой плазмы с нормальной бедной тромбоцитами плазмой..... | 126 |
| 4.5. Тромбиновый тест | 129 |
| 4.6. Концентрация фибриногена: (хронометрический метод А. Clauss)..... | 131 |
| 4.7. Активность коагуляционного фактора VIII | 136 |
| 4.8. Активность коагуляционного фактора IX | 141 |
| 4.9. Активность коагуляционного фактора VII | 145 |
| 4.10. Активность коагуляционного фактора XIII | 148 |
| 4.11. Тест с ядом гадюки Рассела..... | 152 |
| 4.12. Каолиновый тест | 155 |
| 4.13. Аномалия гена протромбина 20210 G/A | 157 |
| 4.14. ADAMTS13 | 162 |
| 4.15. Антитела к кардиолипину | 166 |
| 4.16. Антитела к β_2 -гликопротеину I | 169 |
| 4.17. Рептилазное время | 172 |
| 4.18. Тромбоэластография | 174 |
| 4.19. Тест генерации тромбина..... | 177 |
| Литература..... | 181 |

| | |
|--|-----|
| Глава 5. Определение физиологических антикоагулянтов и компонентов фибринолиза | 185 |
| 5.1. Активность антитромбина..... | 185 |
| 5.2. Активность протеина С..... | 190 |
| 5.3. Активность протеина S..... | 193 |
| 5.4. Резистентность коагуляционного фактора Va к активированному протеину С | 196 |
| 5.5. Аномалия гена коагуляционного фактора V 1691 G>A (Лейден) | 200 |
| 5.6. Скрининг нарушений в антикоагулянтной системе протеина С | 204 |
| 5.7. Плазминоген..... | 207 |
| 5.8. D-димер | 210 |
| Литература | 215 |
| Приложения | 217 |
| Приложение 1. Показания лабораторных тестов при наиболее распространенных нарушениях коагуляционного гемостаза | 217 |
| Приложение 2. Классификационные признаки оборудования, предназначенного для регистрации коагуляции..... | 219 |
| Приложение 3. Особенности преаналитического этапа исследования системы гемостаза | 223 |
| Литература..... | 231 |

Глава 2. Клинические проявления дисфункции системы гемостаза

2.1. Геморрагический синдром

При нормальном функционировании гемостатических механизмов геморрагии не развиваются спонтанно, а травмы большинства сосудов (за исключением повреждений крупных артерий, магистральных вен и сосудистой сети паренхиматозных органов) не угрожают жизни пациента за счет локального образования сгустка фибрина в месте повреждения сосудистого русла. Многочисленные дефекты коагуляции препятствуют физиологическому осуществлению гемостатических реакций, поэтому при грубых нарушениях системы гемостаза даже небольшие сосудистые повреждения могут оказаться причиной смерти пациента. Следует учитывать также то, что у немалого числа пациентов геморрагический синдром обуславливает не травма сосудов, а другие причины (воспалительный процесс, отделение плаценты, деструкция слизистой оболочки или гормонально-индуцированное отторжение эндотелия во время менструации и др.).

Природа предоставила человеческому организму довольно широкий диапазон концентраций для каждого из коагуляционных факторов (табл. 2.1). Кроме того, уровень изолированного снижения любого фактора свертывания, при котором возникают геморрагии, примерно в 5–10 раз ниже среднего значения нормы (табл. 2.2). Следует отметить, что представленные значения имеют лишь ориентировочный характер, поскольку при

составлении этой таблицы не учитывались клиническая ситуация, при которой имеется недостаточность прокоагулянта, а также потенциал тромбоцитарного гемостаза.

Таблица 2.1. Нормальные значения активности коагуляционных факторов

| Фактор | Норма |
|------------|-----------|
| Фибриноген | 1,8–4 г/л |
| II | 50–150 % |
| V | 50–150 % |
| VII | 50–150 % |
| VIII | 50–150 % |
| IX | 50–150 % |
| X | 50–150 % |
| XI | 60–140 % |
| XIII | 60–140 % |

Таблица 2.2. Уровень коагуляционных факторов, необходимый для предупреждения спонтанных геморрагий

| Фактор | Достаточный для осуществления гемостаза уровень |
|------------|---|
| Фибриноген | 0,5 г/л |
| II | 20–25 % |
| V | 10–15 % |
| VII | 10–15 % |
| VIII | 10–15 % |
| IX | 10–15 % |
| X | 10–15 % |
| XIII | 5–10 % |

Геморрагический синдром весьма важно обнаружить как можно раньше, поскольку больные даже с умеренной кровоточивостью во время и/или после хирургического вмешательства, родов способны потерять довольно большой объем крови. В таких ситуациях возможности для уточняющей диагностики у лечащего врача уже не будет, поскольку угрожающие жизни геморрагии зачастую индуцируют коагулопатию потребления, следствием которой будет депрессия большинства компонентов системы гемостаза (тромбоцитов, фибриногена и многих других), что не позволит выявить гемостатический дефект, лежащий в основе неуправляемого кровотечения.

В 1975 г. проф. З.С. Баркаган разработал простую, но весьма полезную классификацию вариантов геморрагий. Автор этой классификации выделил пять основных типов кровоточивости: гематомный, микроциркуляторный, смешанный, васкулитно-пурпурный и ангиоматозный. В табл. 2.3 представлена характеристика указанных пяти типов кровоточивости, а также показано, при каких геморрагических заболеваниях развивается тот или иной вариант. Несмотря на простоту, эта классификация отражает не только клинико-морфологические особенности геморрагий, но и патогенетические механизмы, их обуславливающие, поэтому она уже около 40 лет служит эффективным диагностическим инструментом.

Представленные в табл. 2.3 данные помогут уточнить направление диагностического поиска врачу любой специальности при геморрагиях различной этиологии.

Локализация и варианты геморрагий, их клинические сочетания при патологии системы гемостаза могут быть самыми разнообразными. Ниже представлены наиболее частые геморрагические проявления.

Видимые геморрагии в кожу и подкожную клетчатку

Точечные геморрагии в кожу называют петехиями, множественные круглые небольшого размера кожные кровоизлияния — пурпурой, а более крупные с неправильными очертаниями — экхимозами (рис. 2.1). О подкожной гематоме говорят в том случае, когда кровоизлияние произошло в подкожную клетчатку и приподнимается над поверхностью кожи вследствие расслоения тканей. Появление экхимозов и подкожных гематом в ряде случаев возможно и в отсутствие геморрагического заболевания, поскольку многие женщины при обычном обследовании жалуются на их наличие при незначительной травматизации. Исследование Р.А. Kouides et al. (2000) показало, что у 24 % здоровых женщин детородного возраста и у 78 % с болезнью Виллебранда наблюдаются легко возникающие экхимозы и подкожные гематомы. Наиболее значимыми и надежными диагностическими признаками геморрагического заболевания являются спонтанное появление кожных и подкожных геморрагий, еженедельное или более частое их возникновение, а также размер экхимозов более 5 см.



Рис. 2.1. Типичные множественные экхимозы и подкожные гематомы у ребенка, страдающего гемофилией

Кровотечения при порезах

Кровотечения продолжительностью более 10 мин, обусловленные бытовой травмой, в т. ч. неглубокими порезами кожных покровов лезвием, ножом или каким-либо другим острым предметом, — частые и весьма характерные клинические проявления геморрагического заболевания [Rodeghiero F. et al., 2005].

Кровотечение из слизистых полости носа

Часто носовые геморрагии возникают в детстве, нередко их интенсивность снижается, как только пациент достигает зрелости, однако далеко не всегда подобное проявление крово-

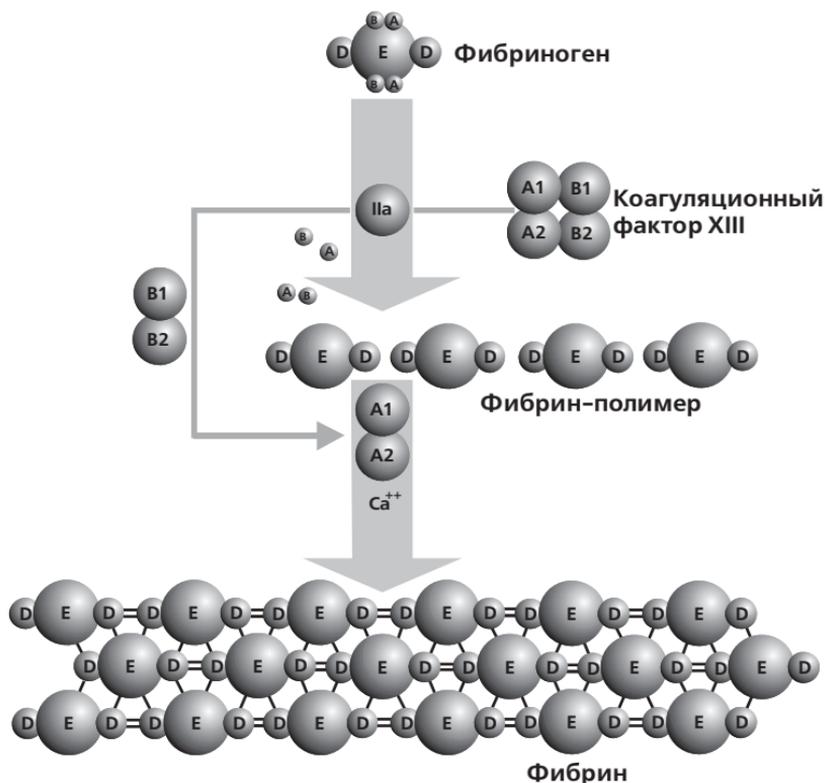


Рис. 4.4. Схема образования нерастворимого фибрина и активация фибринстабилизирующего фактора на конечном этапе коагуляции

Скрининговые методики, оценивающие систему коагуляционного гемостаза (АПТВ, ПВ, ТВ и аналогичные), у больных с дефицитом коагуляционного фактора XIII каких-либо нарушений не выявляют. Для диагностики этого геморрагического заболевания необходимо исследовать его функциональную активность, а уже после обнаружения снижения активности целесообразно определить содержание его молекулярных компонентов иммунологическими методами.

Принцип метода

Принцип метода определения активности коагуляционного фактора XIII основан на измерении количества высвободившегося в результате реакции аммиака (см. ниже).

FXIIIa

Пептидный субстрат $\xrightarrow{\downarrow}$ конъюгат + NH_3

GLDH

$\text{NH}_3 + \text{NADH} + \alpha\text{-кетоглутарат} \xrightarrow{\downarrow} \text{NAD} + \text{глутамат}$

Реактивы и оборудование

- Тромбин, ингибитор полимеризации, кальция хлорид, NADH, глутамат дегидрогеназа, АДФ, α -кетоглутарат, калибратор.
- Фотометр, длина волны 340 нм.

Образцы крови для исследования

В качестве образца для определения концентрации коагуляционного фактора XIII следует использовать БТП.

Техника выполнения

Последовательность действий врача-лаборанта, определяющего активность фибринстабилизирующего фактора, должна строго соответствовать инструкции к набору реагентов.

Оценка результатов исследования

Для определения активности коагуляционного фактора XIII необходимо построить калибровочную кривую. Калибраторы целесообразно исследовать в дублирующих определениях и применять новую калибровочную кривую для каждой новой серии диагностического набора. Для калибровочного графика используют величины оптической плотности, полученные при определении активности коагуляционного фактора XIII в калибраторе.

У здоровых доноров активность коагуляционного фактора XIII составляет 60–140 %.

Каждая лаборатория должна использовать программы контроля качества. В настоящее время доступны образцы контрольных материалов с аттестованными значениями коагуляционного фактора XIII.

Интерпретация результатов исследования

Геморрагическое заболевание вследствие снижения уровня коагуляционного фактора XIII является наиболее редким заболеванием из числа известных геморрагических дефицитов факторов коагуляции. Его распространенность в популяции составляет примерно 1 случай на 2–4 млн человек. Заболевание характеризуется аутосомно-рецессивным типом наследования, в его генезе мутации генов, ответственных за синтез субъединиц фактора XIII. В генетической классификации наследственного дефицита фибринстабилизирующего фактора принято различать: 1) дефицит субъединицы А; 2) дефицит субъединицы В; 3) комбинированный дефицит обеих субъединиц.

Основным клиническим проявлением врожденного дефицита фактора XIII служит геморрагический синдром, который проявляется микроциркуляторным или смешанным типом кровоточивости. Наиболее ранним и характерным признаком этого заболевания бывает медленное заживление пупочной ранки у новорожденных и кровотечение из нее в первые недели жизни. Для развития геморрагического синдрома, сочетающегося с плохим заживлением ран, необходим достаточно глубокий дефицит этого коагуляционного фактора (< 5 %). В том случае, если концентрация коагуляционного фактора XIII выше 5 %, спонтанные кровотечения отсутствуют. У ряда больных, имеющих активность коагуляционного фактора 5–18 %, плохое заживление ран сочетается с образованием больших рубцов. При дефиците фактора XIII нередко развиваются так называемые поздние кровотечения, которые возникают через 12–72 ч после хирургического вмешательства или травмы.

Гораздо чаще встречается вторичный дефицит фактора XIII (при опухолях, ДВС-синдроме, заболеваниях толстой кишки и др.). Приобретенный дефицит фактора XIII, как правило, развивается вследствие его повышенного потребления. Вторичный дефицит фибринстабилизирующего фактора всегда умеренный, в большинстве клинических ситуаций не менее 20 %.

Другие аналитические технологии

Иммунологические методы позволяют измерить концентрацию всего тетрамерного комплекса коагуляционного фактора XIII, а также содержание субъединиц А и В. Поскольку уровни субъединиц А и В изменяются независимо друг