

АЛГОРИТМЫ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА.

Мельник А.А., к.б.н.

Система гемостаза - биологическая система, обеспечивающая с одной стороны, сохранение жидкого состояния циркулирующей крови, а с другой - предупреждение и купирование кровотечений (1). Процесс свертывания крови относится к категории наиболее сложных биологических систем организма и имеет три различных этапа (тромбоцитарно-сосудистый, коагуляционный и фибринолиз), которые тесно связаны друг с другом. В клинической практике широко распространены отклонения в функционировании системы гемостаза, что приводит к геморрагическим или тромбоэмболическим осложнениям. С такими эпизодами в своей практике сталкиваются врачи практически всех специальностей (Табл.1).

Направления в медицине	Исследование гемостаза
Поликлиническое	Скрининг, мониторинг антикоагулянтной терапии.
Хирургия, травматология	Пред- и послеоперационный период, массивная кровопотеря, ожоговая болезнь, обширные травмы.
Акушерство, гинекология, вспомогательные репродуктивные технологии	ДВС-синдром, тромбофилия, экстракорпоральное оплодотворение.
Кардиология	Антикоагулянтная терапия, центральные венозные катетеры, кардиостимуляторы, искусственные клапаны сердца.
Онкология	Хирургическое и/или химиотерапевтическое лечение.
Гематология	Диагностика дефицита факторов свертывания, мониторинг заместительной терапии.
Отоларингология	Носовые кровотечения, осложнения после тонзиллэктомии.
Эндокринология	При сахарном диабете обоих типов отмечается высокая адгезивность тромбоцитов, гиперкоагуляция, склонность к протромботическому состоянию, увеличение активности тромбина.
Стоматология	При удалении зуба кровотечения встречаются в 0,8-2,9% случаев, что составляет более 25% от всех осложнений. Некоторых пациентов с повышенной кровоточивостью специально готовят к операции по удалению зуба.
Урология, нефрология	Хроническая болезнь почек, гломеруло- и пиелонефрит, нефротический синдром.
Наркология	Спонтанная агрегация тромбоцитов, увеличение уровня фактора фон Виллебранда, эндотелиальная дисфункция, тромбоз коронарных артерий.

Табл.1. Исследование системы гемостаза врачами различных специальностей.

К сожалению, в большинстве случаев, врач-клиницист, который получает данные лабораторных исследований, не имеет ответа на вопрос - как соотнести эти показатели между собой и в каком состоянии находится система свертывания крови пациента. Для этого необходимо учитывать три основные составляющие:

- Клинические проявления;
- Индивидуальный и семейный анамнез;
- Лабораторные исследования.

Клинические проявления.

При обследовании пациентов с подозрением на нарушение в системе гемостаза необходимо обращать внимание на такие клинические проявления как кровоподтеки и геморрагическую сыпь, носовые, желудочно-кишечные кровотечения, меноррагии, гемартрозы и внутримышечные гематомы. Исключить возможность кровотечений, вызванных локальными изменениями, например при фиброматозе матки, при расширении сосудов носовой перегородки или ее повреждении и др.

Тщательный осмотр пациента позволяет дифференцировать коагуляционный тип кровоточивости, в основе которого лежат изменения плазменно-коагуляционного звена гемостаза от капиллярного, который наблюдается при нарушениях в сосудистом или тромбоцитарном звеньях. На этом этапе возможно определить характер кровоточивости по клиническим проявлениям (Табл.2).

Клинические проявления	Характер кровоточивости	
	Коагуляционный	Капиллярный
Гематомы (синяки)	Большие	Небольшие поверхности
Гемартрозы	Как основной признак часто встречаются у тяжелых больных	Не характерны
Петехии	Отсутствуют	Типичные проявления
Носовые кровотечения	Наблюдаются редко	Часто основной вид кровотечения
Кровотечения при поверхностных порезах	Отсутствуют	Длительные
Кровотечения после удаления зуба	Начинаются через несколько часов после удаления зуба и не останавливаются после наложения давящей повязки	Начинаются сразу после удаления зуба и обычно останавливаются после наложения давящей повязки
Послеоперационные кровотечения	Поздние кровотечения с образованием раневой гематомы	Кровотечения в основном во время операции
Характерные проявления при умеренных формах	Большие гематомы после травмы и опасные кровотечения после ранений и операций	Носовые и маточные кровотечения

Табл.2. Определение характера кровоточивости по клиническим проявлениям.

Индивидуальный и семейный анамнез.

Очень важным является как можно более полный сбор анамнеза. Для этого у пациента выясняют следующее:

- были ли хирургические вмешательства (экстракция зубов, тонзиллэктомия и др.);
- имеются ли системные заболевания (почечная и печеночная недостаточности);
- какие лекарственные препараты принимает (аспирин, прямые или непрямые антикоагулянты, гепарины);
- семейный анамнез (носовые кровотечения в детстве, кровоточивость при порезах и травмах, образование гематом, гемартрозов, петехий, характер и длительность менструального цикла). Отрицательный семейный анамнез не исключает возможности выявления врожденного геморрагического заболевания, которое может возникнуть в семье впервые. Не редко пациенты не располагают сведениями о своих родственниках.

Лабораторные исследования.

Следующим шагом в диагностике являются лабораторные исследования. Основными причинами расстройств гемостаза являются:

При кровотечениях:

- дефекты сосудисто-тромбоцитарного звена;
- дефицит плазменных коагуляционных факторов и vWF (фактор фон Виллебранда);
- действие антикоагулянтов;
- гиперактивный фибринолиз.

При тромбозах:

- избыток и/или гиперактивность плазменных факторов;
- дефицит первичных антикоагулянтов (АТ III, протеин С, протеин S);
- повреждение тканей (включая хирургические вмешательства);
- обездвиженность;
- онкологические заболевания.

Для врачей-клиницистов рекомендуется применять в своей практике общий алгоритм исследования системы гемостаза, при использовании которого, возможно адекватно назначить терапию в зависимости от тромбоэмболического состояния или кровотечения у пациентов (2) (Табл.3).

Этап исследования	Исследуемые показатели	Норма
Оценочные тесты (1-й уровень). Лаборатории первичного звена	1. Тромбоциты (количество)	180 – 350 x 10 ⁹ /л
	2. ПВ-Протромбиновое время, МНО-Международное нормализованное отношение	12-14 сек; 0,9 -1,1
	3. АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время	26-36 сек
	4. Фибриноген (по Клаусу)	2,0 – 4,0 г/л
Оценочные тесты (2-й уровень) Лаборатории диагностических центров и стационаров	1. Тромбоциты (количество)	180 – 350 x 10 ⁹ /л
	2. ПВ, МНО	12-14 сек; 0,9-1,1
	3. АЧТВ	26-36 с
	4. Фибриноген	2,0 – 4,0 г/л
	5. ТВ -Тромбиновое время	14-18 сек
	6. Д-димер	< 500 нг/мл
Дополнительные Тесты Специализированные лаборатории	1. Протеин С	69 -134 %
	2. Протеин S	63 – 135%
	3. Антитромбин III	80 -120 %
	4. Агрегационная активность тромбоцитов	
	5. Генетическое тестирование	FV Лейден G1691A, мутация гена протромбина G20210A
	6. Антифосфолипидные антитела (АФА), волчаночный антикоагулянт (ВА)	
	7. Гомоцистеин	5-15 мкмоль/л
	8. Активность фактора фон Виллебранда и плазменных факторов свертывания (VIII, IX, XI, XII, X, V, II)	

Табл. 3. Общий алгоритм исследования системы гемостаза.

Контроль антикоагулянтной терапии выполняется в лабораториях всех уровней: АЧТВ – нефракционированный гепарин, МНО – антагонисты витамина К.

Алгоритм лабораторных диагностических тестов при нарушении системы гемостаза представлен на рис.1 (3).

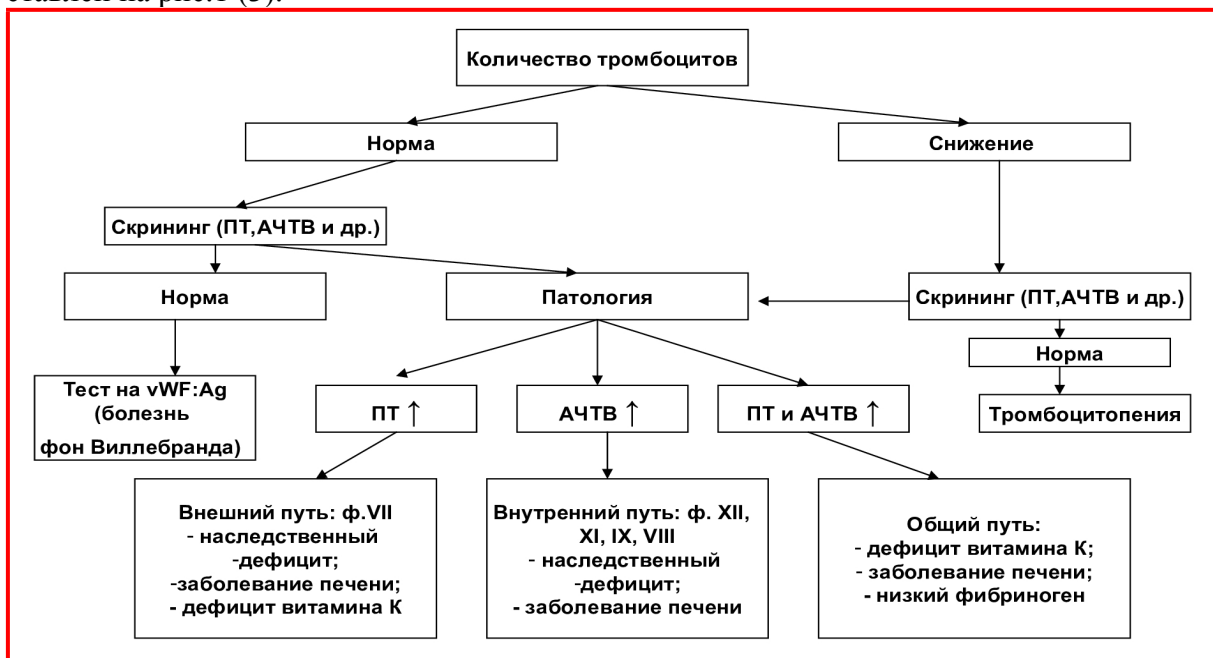


Рис. 1. Алгоритм лабораторных диагностических тестов при нарушении системы гемостаза.

Лабораторная оценка пролонгированных результатов для коагуляционных тестов АЧТВ и ПВ.

АЧТВ и ПВ являются широко используемыми скрининговыми тестами, которые отражают процесс образования конечного продукта свертывания крови (сгустка фибрина) по внутреннему и внешнему пути.

1. Изолированное удлиненное АЧТВ.

АЧТВ – это скрининговый тест для оценки эффективности внутреннего пути свертывания крови. Пролонгированное АЧТВ может наблюдаться при дефиците факторов XII, XI, X, IX, VIII, V, II или фибриногена, при заболевании печени, дефиците витамина К, присутствии гепарина, волчаночного антикоагулянта, наличии патологических ингибиторов свертывания. С целью установления причины кровотечения и сокращения времени для установления диагноза были разработаны алгоритмы лабораторной диагностики геморрагических заболеваний. Они основаны на последовательном выполнении коррекционной пробы удлиненного АЧТВ, а также тестов, уточняющих диагноз (3,4).

Изолированное пролонгированное АЧТВ рассматривается в тех случаях, когда протромбиновое и тромбиновое время находятся в нормальном диапазоне, а также исключен прием гепарина.

Критерием удлинения АЧТВ является коэффициент (R) > 1,2, где:

$$R = \frac{\text{АЧТВ пациент (сек)}}{\text{АЧТВ нормальная плазма (сек)}}$$

Миксовый тест АЧТВ проводится смешением в пропорции 1:1 плазмы пациента с удлиненным АЧТВ и нормальной плазмы. Через 2 часа измеряется АЧТВ полученной смеси и рассчитывается ICA (Index of Circulating Anticoagulant, index Rosner) или Индекс Циркулирующего Антикоагулянта (ИЦА) (5,6).

Индекс ИЦА/Рознера – это локально определенное значение с интервалом обычно 10-20% (в среднем 15%). Имеет специфичность – 98-100% и чувствительность – 55-68%.

$$\text{ИЦА} = \frac{\text{АЧТВ}_{\text{сек}} (\text{разв. плазма 1:1}) - \text{АЧТВ}_{\text{сек}} (\text{нормальная плазма})}{\text{АЧТВ}_{\text{сек}} (\text{пациента})} \times 100 \%$$

Интерпретация результатов:

- ИЦА (ИСА) < 15% - является коррекцией (истинный дефицит факторов);

- ИЦА (ИСА) > 15% - не является коррекцией (ингибитор).

Необходимо отметить, что для коррекции АЧТВ достаточно 30 – 50 % активности факторов свертывания.

Алгоритм проведения миксового теста с АЧТВ представлен на рис.2.

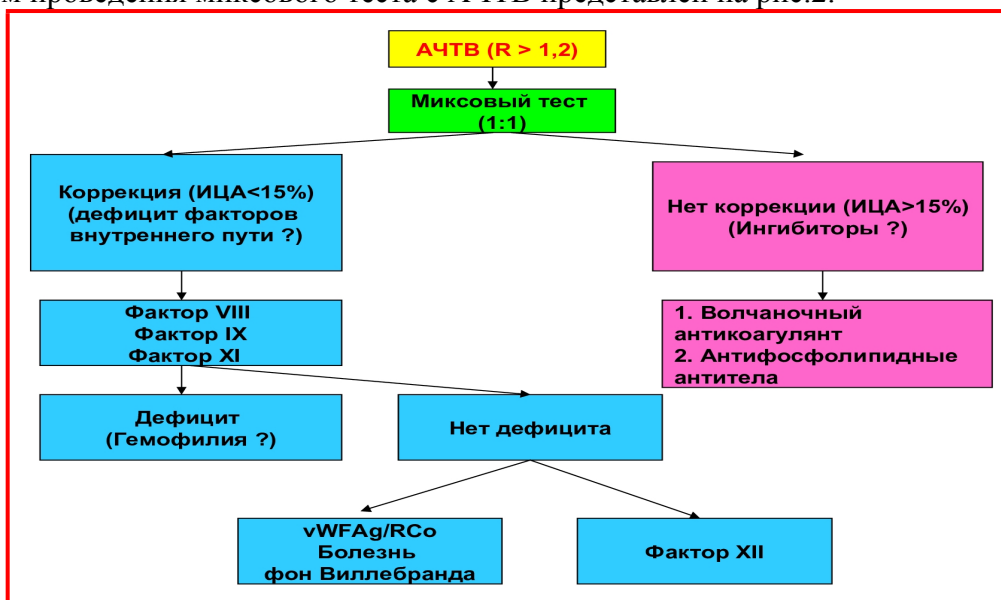


Рис.2. Алгоритм проведения миксового теста с АЧТВ.

При проведении миксового теста с АЧТВ возможны следующие диагнозы:

1. Коррекция произошла:

- истинный дефицит факторов VIII (гемофилия А), IX (гемофилия В), XI (гемофилия С);
- дефицит фактора VIII в результате быстрого разрушения (болезнь фон Виллебранда).

2. Коррекция не произошла:

- ингибиторы волчаночного типа;
- антифосфолипидные антитела;
- ингибиторная (приобретенная) форма гемофилии А;
- ингибиторная (приобретенная) форма гемофилии В;
- ингибиторная (приобретенная) форма гемофилии С.

Если коррекция произошла, тогда выполнять лабораторные исследования рекомендуется в порядке убывания частоты встречаемости дефицита факторов свертываемости, а именно: факторы VIII, IX, XI, XII (Табл.4) (7).

Факторы	Распространенность дефицита факторов
Фактор VIII	1:10 000
Фактор IX	1:30 000
Фактор XI	1:1 000 000
Фактор фон Виллебранда	1:100 000
Фактор VII	1:500 000
Фактор X	1:500 000
Фактор V	1:1 000 000

Фибриноген	1:1 000 000
Протромбин	1:1 000 000
Фактор XIII	1:2 000 000

Табл.4. Распространенность дефицита факторов свертывания в популяции.

Если коррекция не произошла, необходимо определить наличие ингибиторов к фосфолипидам, на которых проходят реакции. Для этого проводят исследования на присутствие волчаночного антикоагулянта и антифосфолипидных антител (8).

Волчаночный антикоагулянт.

Используют два различных по принципу фосфолипид-зависимых теста:

1. dRVVT (время свертывания с ядом гадюки Рассела);
2. Чувствительный АЧТВ-тест (время свертывания с кремниевым активатором).

Волчаночный антикоагулянт следует рассматривать как положительный, если по крайней мере один из 2-х тестов дает положительный результат. В качестве активатора каолин не рекомендован для использования из-за присутствия интерференции с фотооптическими анализаторами, а эллаговую кислоту не применяют из-за низкой чувствительности к ВА.

Антифосфолипидные антитела.

2. Наличие антител к кардиолпину IgG и/или IgM изотипа в сыворотке в среднем или высоком титре в 2-х или более измерениях с интервалом не менее 12 недель.
3. Наличие антител к β -2 гликопротеину I изотипов IgG и/или IgM изотипа в сыворотке в высоком титре в 2-х или более измерениях с интервалом не менее 12 недель.

2. Изолированное удлинение протромбинового времени (дефицит фактора VII).

Протромбиновое время является способом оценки дефицита факторов протромбинового комплекса или внешнего пути свертывания. Результаты теста зависят от содержания факторов II, V, VII и X.

В некоторых случаях отмечается изолированная недостаточность фактора VII, которая может быть приобретенной или врожденной, что приводит к увеличению протромбинового времени. Приобретенный дефицит ф. VII является довольно редкой патологией и в большинстве случаев связан со злокачественными опухолями, сепсисом и/или трансплантацией костного мозга (9). В некоторых случаях лабораторные данные подтверждают выработку аутоантител, которые могут нейтрализовать активность ф. VII или ускорить его клиренс. Врожденный дефицит ф. VII имеет установленную распространенность 1:500 000 (10) и часто обнаруживается случайно. Пациенты могут не отмечать симптомов и не иметь спонтанных суставных и церебральных кровоизлияний. Осложненные кровотечения обычно возникают у гомозиготных и гетерозиготных индивидуумов в отличие от дефицита факторов VIII и IX. Степень дефицита ф. VII плохо коррелирует со склонностью к кровотечениям.

Диагностика тромбозных состояний.

Более сложной и комплексной задачей является определение причин состоявшегося венозного и артериального тромбоза или невынашивания беременности. В настоящее время на первое место среди причин смертности выступают заболевания, в патогенезе которых большую роль играет состояние гиперкоагуляции (11). Более чем у 50% пациентов в мире непосредственной причиной смерти является тромбоз (острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт, тромбоз легочной артерии (ТЭЛА), онкотромбоз и др.) К сожалению, в данном случае скрининговые тесты не являются информативными. При этом результаты рутинно используемых коагуляционных тестов для определения АЧТВ и ПВ чаще всего остаются неизменными даже при развитии тромбоза.

В соответствии с клинической ситуацией должны быть предприняты шаги по исследованию маркеров активации свертывания, гиперактивности тромбоцитов, направленный поиск наследственной тромбофилии, антифосфолипидного синдрома, определение

гомоцистеина. (Табл.5). Если тромбоэмболических осложнений нет, но предполагается их высокий риск, то степень риска оценивается, главным образом, клинически в соответствии с диагнозом, по семейному и индивидуальному анамнезу и может быть дополнена лабораторными данными.

Оценка причин тромбоза	Определение маркеров активации системы свертывания
Антитромбин III, протеин C, протеин S	Фибриноген
Генетический анализ на тромбофилию (ф. V Лейден G1691A , ф. II G20210	Фактор VIII (активность)
Гомоцистеин	Фактор фон Виллебранда (антиген)
Антифосфолипидный синдром (волчаночный антикоагулянт, антитела к кардиолипину IgG/IgM	Д-димер (количественно)
Общий анализ крови, С-реактивный белок, провоспалительные цитокины	Функциональная активность тромбоцитов
Группа крови (имеет значение не «O»)	

Табл.5. Лабораторная оценка системы гемостаза при склонности к тромбозам.

Клиническими предикторами склонности к тромбообразованию являются:

- Повторные эпизоды, тромбоза глубоких вен, ТЭЛА, острый инфаркт миокарда и др.;
- Венозный стаз (беременность, иммобилизация, варикоз болезнь вен и др.);
- Васкулиты, рак, миелопролиферативные заболевания;
- Прием оральных контрацептивов, длительное введение гепарина.

Лабораторными предикторами тромбоза являются:

- тромбоцитоз ($> 600 \times 10^9 /л$);
- выраженная гиперфибриногенемия (6-8 г/л);
- присутствие волчаночного антикоагулянта и антител к кардиолипину;
- дефицит АТ III, протеина C, протеина S;
- увеличение активности ф. VIII;
- тромбогенные мутации G1691A, G20210A.

Важно отметить, что исследование отдельных факторов, таких как концентрация фибриногена, активности ф. VIII и фактора фон Виллебранда, а также активности естественных антикоагулянтов (АТ III , протеинов C и S) может выявить отклонения от референтного интервала, но не позволит судить о наличии гиперкоагуляции в целом. Объясняется это тем, что изменения отдельных компонентов свертывающей системы крови могут быть нивелированы в организме включением компенсаторных механизмов. Поэтому исследование отдельных маркеров коагуляции может дать только косвенную оценку тромбинемии. В настоящее время в мире широко применяют новые методы исследования системы гемостаза (глобальные тесты) такие как тромбоэластография (12,13), тест тромбодинамики (14), тест генерации тромбина (15).

Заключение.

Значимость лабораторной оценки состояния системы гемостаза в современной клинической практике сложно переоценить. Основная причина этого заключается в важнейшей патофизиологической роли, которую играет гемостатический баланс в развитии осложнений различных заболеваний. Лабораторные данные исследования свертывающей системы необходимы прежде всего пациентам, которые перенесли травму, кровопотерю, готовящимся к стационарным и амбулаторным хирургическим вмешательствам, принимающим антикоагулянты, заместительную терапию, страдающим сердечно-сосудистыми заболеваниями, беременным, с врожденными или приобретенными нарушениями свертывания крови. На основании полученных результатов у пациентов с

геморрагическими эпизодами в анамнезе или с риском развития тромбоза врач-клиницист принимает дальнейшие важные решения от постановки диагноза до выбора характера терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. – РМАПО, кафедра КДЛ, Москва, 2005, стр. 227.
2. Вавилова Т.В. Как построить программу лабораторного обследования больного с нарушениями в свертывании крови. Атеротромбоз. – 2017, №2, 95-108.
2. Грашин Р.А., Вавилова Т.В. Программы и алгоритмы наиболее часто встречающихся нарушений гемостаза. В кн.: Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы. Пособие для врачей под редакцией проф. А.И. Карпищенко. М.: ГЭО-ТАР-Медиа, 2014: 517-564.
3. Collins P, Baudo F, Huth-Kihne A. et al. Consensus, recommendations for the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. BMC Research Notes. 2010;3:161 - 168.
4. Collins P, Chalmers E, Hart D, Jennings I, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, Williams M, Hay C. A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization (UKHCDO) guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology Diagnosis and management of acquired coagulation inhibitors: a guideline from UKHCDO. Br.J. Haematol. 2013;162(3):758–731.
5. Kumano O, Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N, Aoki T. Index of circulating anticoagulant cut-off value establishment in activated partial thromboplastin time mixing test for lupus anticoagulant diagnosis. J Thromb Haemost 2013; 11: 1919–22.
6. Kershaw G, Orellana D. Mixing tests: diagnostic aides in the investigation of prolonged prothrombin times and activated partial thromboplastin times. Semin Thromb Hemost. 2013 Apr; 39(3):283-90.
7. Lillicrap D. Molecular Testing for Disorders of Hemostasis. Int J Lab Hematol. 2013 June ; 35(3): 290–296.
8. McGlasson D L., Fritsma G.A. Comparison of Six Dilute Russell Viper Venom Time Lupus Anticoagulant Screen/Confirm Assay Kits. Semin Thromb Hemost 2013; 39(03): 315-319.
9. Mullighan CG, Rischbieth A, Duncan EM, Lloyd JV. Acquired isolated factor VII deficiency associated with severe bleeding and successful treatment with recombinant FVIIa (NovoSeven). Blood CoagFibrinol 2004;15:347–51.
10. Giansily-Blaizot M, Schved J-F. Potential predictors of bleeding risk in inherited factor VII deficiency: clinical, biological and molecular criteria. ThrombHaemostasis 2005;94:901– 6.
11. Алгоритм диагностики гемостаза и мониторинг антитромботической терапии. Методические рекомендации. 2016. — СПб., Агентство «Ви и Т-принт», 2016. — 20 с.
12. Мельник А.А. Тромбоэластография – новые возможности оценки гемостаза в практической медицине. Медицинская газета «Здоровье Украины», 2014 г., №5 (330), стр.58 и №6(331), стр.62.
13. Chitlur M, Sorensen B, Rivard GE, et al. Standardization of thromboelastography: a report from the TEG-ROTEM working group. Haemophilia. 2011;17(3):532-537.
14. Мельник А.А. Инновационный тест тромбодинамики – принципиально новый метод исследования системы гемостаза. Медицинская газета «Здоровье Украины», 2015 г., №23, стр.3-4.
15. Мельник А.А. Тест генерации тромбина - уникальный метод интегральной оценки системы гемостаза. Медицинская газета «Здоровье Украины», 2016 г., №2, стр.34-35.