

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРУШЕНИЙ КОНЕЧНОГО ЭТАПА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

КАК ОДИН ИЗ «ГЛОБАЛЬНЫХ» ТЕСТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА



Система гемостаза, как известно, филогенетически предназначена для остановки кровотечения при травме и обеспечения жидкого состояния крови при сохранении биологической целостности сосудистой стенки. Нарушения в этой системе способны стать причиной развития как кровотечений, так и тромбозов.

При лабораторном скрининге нарушений гемостаза в клинической практике широко используют так называемые «глобальные» тесты, призванные оценивать изменения гемостатических реакций в целом и не способные распознавать отдельные причины этих нарушений. В число этих тестов входят протромбиновое время свертывания и активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ/АЧТВ), с помощью которых оценивают свертывание крови соответственно по внешнему и внутреннему механизмам гемокоагуляции. В дополнение к ним часто используется тромбиновое время (ТВ) свертывания, данные которого, как принято считать, отражают нарушения конечного этапа свертывания. Однако измерение ТВ мало информативно, поскольку этот тест удлинит свои показатели лишь при глубоком снижении концентрации фибриногена (менее 1,0 г/л) либо при активной гепаринотерапии.

В Алтайском филиале ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России разработан **новый метод оценки конечного этапа свертывания крови по стандартизированному определению времени самосборки фибрин-мономера** в плазме крови пациента (Патент РФ 2366955 от 10.09.2009). На основе этого метода фирмой «Технология-Стандарт» зарегистрирован в России и производится набор реagens «Тех-Полимер-тест» (Рег. Удостоверение № ФСР 2010/09302).

Принцип метода. Определяется время свертывания плазмы крови под действием тромбина стандартной активности в присутствии фиксированной концентрации ингибитора полимеризации фибрин-мономеров (ФМ). Данный показатель отражает динамику образования и время полимеризации ФМ в исследуемом образце плазмы крови.

Подготовка реagens и ход определения приведен в Инструкции к набору «Тех-Полимер-тест».

Оценка результатов:

1. Отмечают время полимеризации в секундах у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.
2. Рассчитывают показатель R по формуле:

$$R = \frac{t_1}{t_2}, \text{ где}$$

t_1 – время полимеризации в плазме больного;

t_2 – время полимеризации в контрольной плазме практически здоровых людей.

В норме R соответствует диапазону **0,80-1,20**.

Интерпретация результатов: показатели R более **1,20**, свидетельствуют о наличии дисфибриногемии либо гипокоагуляционного сдвига, обусловленного нарушением фибринообразования. Снижение R менее **0,80** соответствует гиперкоагуляционному сдвигу на конечном этапе свертывания крови.

Клинико-лабораторная апробация нового теста была проведена на образцах плазмы 111 больных с геморрагическим синдромом различного происхождения, у 80 больных с верифицированным тромбозом, а также у 245 пациентов с тотальной артропластикой тазобедренного сустава, из которых 123 человека в качестве тромбопрофилактики получали эноксапарин, а 122 – дабигатран в профилактических дозах.

Контрольные показатели времени полимеризации ФМ (t_2) по результатам обследования здоровых людей (при исследовании на полуавтоматических коагулометрах Минилаб-701 и АПГ2-04П).

$X=30,7$; $\sigma=3,01$; $m=0,46$; время свертывания – 24,5-37,8 с; коэффициент вариации 8,5%.

При обследовании пациентов с различными видами патологии были получены следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1. Время полимеризации ФМ в сравнении с тромбиновым и рептилазным временами свертывания у обследованных пациентов и у практически здоровых людей

Группы обследованных	Тромбиновое время, с	Рептилазное время, с	Время полимеризации ФМ, с
1. С геморрагическим синдромом	15,3±0,09	31,1±0,43	40,0±1,63
2. С тромбозом и состоянием тромботической готовности	16,2±0,56	31,6±1,25	26,5±0,63
3. После артропластики т/б сустава, получающие эноксапарин, на 10 сутки	15,9±0,16	30,4±1,11	25,6±0,54
4. После артропластики т/б сустава, получающие дабигатран, на 10 сутки	64,7±6,13	29,5±0,94	39,9±4,59
5. Практически здоровые	15,4±0,14	28,9±0,11	30,7±0,46
Достоверность различий (p)	Не достоверно между 1, 2, 3 и 5 группами $p_{4-5}<0,005$	Не достоверно между 1, 2, 3, 4, 5 группами	$p_{1-5}<0,005$ $p_{2-5}<0,005$ $p_{3-5}<0,005$ $p_{4-5}<0,005$

Апробация нового теста у больных с типовыми нарушениями гемокоагуляции показала, что его **результаты** имеют, как правило, **самостоятельное значение**. В частности, коэффициент корреляции (Спирмена) его значений с результатами АПТВ составил 0,15, протромбинового теста: – 0,11, ТВ: 0,10. Наряду с этим, корреляция изучаемого показателя с уровнем РФМК в плазме была высоко достоверной и составила – 0,49 ($p<0,001$) в группе больных с тромбозами или склонностью к внутрисосудистому свертыванию крови. Близкие значения связи были получены и при сопоставлении с другими маркерами тромбинемии (табл. 2).

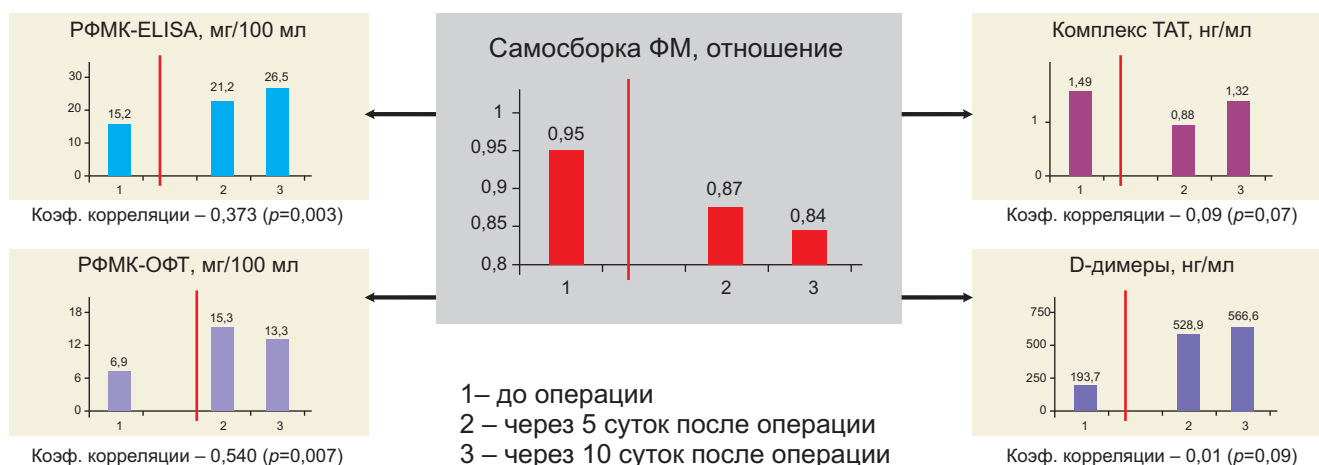
Таблица 2. Коэффициент корреляции между результатами оценки полимеризации ФМ и уровнем классических маркеров тромбинемии в крови у больных с острыми венозными тромбозами

D - димер	Фрагменты протромбина 1+2	Фактор VIIa	Фибринопептид А	РФМК*
-0,51	-0,35	-0,61	-0,65	-0,49
$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$

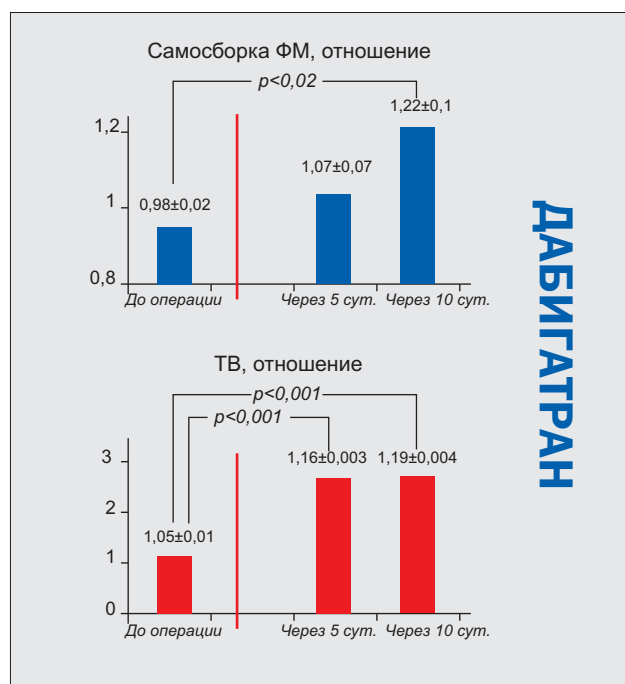
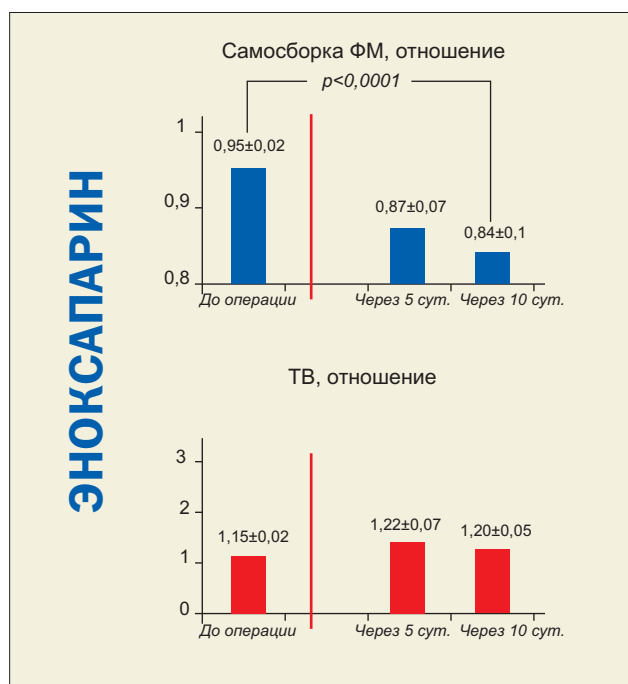
Примечание: * – по результатам орто-фенантролинового теста.

При проведении исследований у пациентов с тотальной артропластикой тазобедренного сустава, которые в качестве тромбопрофилактики получали эноксапарин в профилактической дозе до операции, а также на 5 и 10 суток после проведения оперативного лечения, нами обнаружена отрицательная корреляционная связь между временем самосборки фибрин-мономера и РФМК по орто-фенантролиновому тесту и РФМК-ELISA, определенным с помощью тест-системы производства *Cusabio Biotech (ИФА)*. Эти показатели составили соответственно – 0,373 ($p=0,003$) и – 0,540 ($p=0,007$).

Время самосборки фибрин-мономеров и маркеры тромбинемии после эндопротезирования тазобедренного сустава на фоне приема эноксапарина



Особенности самосборки фибрин-мономеров в крови при эндопротезировании на фоне тромбопрофилактики эноксапарином и дабигатраном



Клинический пример 1: Пациентка Ш., 30 лет, жительница г. Барнаула, обратилась в Алтайский филиал Гематологического научного центра в 2008 году по направлению акушера-гинеколога в ранний срок беременности (7 недель, вторая беременность) в связи с имеющимся геморрагическим анамнезом.

Больная отмечает наличие обильных длительных кровотечений, первый эпизод которых наблюдался в возрасте 3-х лет, после аденотомии. Менструации с 13 лет, также обильные и длительные. В последние два года страдает частыми, хотя и умеренными носовыми кровотечениями, чаще в ночное время. В 2007 году, перед планированием второй беременности кровотечение наблюдалось после лазерной коагуляции шейки матки. При исследовании системы гемостаза в это время исключены болезнь Виллебранда и заболевания печени.

Первая беременность (в 2006 г.) была прервана при сроке 20 недель по медицинским показаниям (несоответствие развития плода по срокам, маловодие). Вторая беременность наступила самостоятельно, угрозы прерывания до 7 недели гестации не наблюдалось. Показатели коагулограммы приведены в табл. 3.

Таблица 3. Результаты исследования системы гемостаза пациентки Ш.

Исследованные параметры системы гемостаза	Показатель у пациентки	Контрольные нормальные значения	Отношение (больной/контроль)
Количество тромбоцитов в крови, $\times 10^9/\text{л}$	192	170-400	
Агрегация тромбоцитов с АДФ ($2,0 \times 10^5 \text{ М}$), %	75	70-80	
Агрегация тромбоцитов с адреналином (10 мкг/мл), %	77	70-80	
Фактор Виллебранда, антиген, %	194	50-150	
АПТВ, с	31	30	1,03
Протромбиновое время, с	12	12	1,00
Тромбиновое время, с	15	15	1,00
Эхитоксовое время, с	29	26	1,12
Лебетоксовое время, с	33	33	1,00
Анцистроновое (рептилазное) время, с	33	27	1,22
Самосборка фибрин-мономеров, с	143	32	4,47
Концентрация фибриногена по Клауссу, г/л	3,7	1,8-4,0	
Активность фактора VIII, %	90	50-150	
Активность антитромбина III, %	94	75-125	
Уровень РФМК (растворимого фибрина), мг/100 мл	12,0	менее 3,5	
D-димеры, нг/мл	225	менее 300	
XIIIa-зависимый лизис эуглобулинов, мин	10	6-10	

При использовании **тест-системы «Тех-Полимер-тест»** были выявлены нарушения **на конечном этапе свертывания крови**. В частности, время самосборки фибрин-мономера, определенное на коагулометре Минилаб-701, составило, по средним данным из трех измерений 143 с при контроле 32 с (**отношение 4,47**).

Полученные данные, с учетом показаний анцистронового теста, **позволили верифицировать наличие дисфибриногенемии врожденного генеза, лежащей в основе геморрагического синдрома**.

Клинический пример 2: Пациент Д., 56 лет, житель г. Барнаула, переведен из терапевтического отделения в отделение грудной хирургии городской больницы № 5 по экстренным показаниям в связи с жалобами на кашель с гнойной мокротой до 60 мл в сутки, боли в левой половине грудной клетки. Болен в течение 2-х недель, когда стал отмечать нарастающую боль в грудной клетке, фебрильную температуру, кашель. При пункции получен гной, установлен диагноз: Пневмоторакс слева на фоне абсцедирующей пневмонии левого легкого.

Исследование системы гемостаза было проведено при поступлении пациента, а также через 10 дней на фоне проводимого лечения (антибактериальная, симптоматическая терапия). Состояние больного при поступлении – средней степени тяжести. Через четверо суток – удовлетворительное, самочувствие улучшилось. Данные коагулограммы приведены в табл. 4.

Таблица 4. Результаты исследования системы гемостаза пациента Д.

Исследованные параметры системы гемостаза	При поступлении	Через 10 дней от начала лечения	Контрольные нормальные значения
АПТВ, с	37	32	32
Протромбиновое время, с	16	14	13
Тромбиновое время, с	19	21	17
Концентрация фибриногена по Клауссу, г/л	5,0	5,1	1,8-4,0
Уровень РФМК (растворимого фибрина), мг/100 мл	15,0	11,0	менее 3,5
Активность антитромбина III, %	63	123	75-125
Скрининг нарушений в системе протеина С, НО	0,46	0,75	0,7-1,3
Фактор Виллебранда, антиген, %	230	189	50-150
Самосборка фибрин-мономеров, с	22	31	31

При использовании «Тех-Полимер-теста» у больного при поступлении на стационарное лечение был **выявлен гиперкоагуляционный сдвиг на конечном этапе свертывания крови** (22 с при контроле 31 с, отношение 0,7), **хотя другие тесты коагулограммы (АПТВ, протромбиновое время) не были существенно изменены**. При улучшении состояния, на фоне проводимого лечения, время самосборки фибрин-мономера, определенное на коагулометре Минилаб-701, составило 31 с, что соответствовало контрольным нормальным значениям показателя (отношение 1,0). Полученные данные свидетельствуют о том, что **результаты «Тех-Полимер-теста» имеют самостоятельное значение** наряду с другими параметрами коагулограммы, измеряющими время образования фибрина.

Результаты испытаний позволяют отнести метод оценки самосборки фибрин-мономера к числу **«глобальных» тестов**. Он **имеет самостоятельное значение при оценке гипокоагуляции** на конечном этапе свертывания, диагностике дисфибриногенемии, выявлении мезенхимальной дисплазии, **более чувствителен**, чем тромбиновый или рептилазный (анцистроновый) тесты. Метод оценки самосборки фибрин-мономера может использоваться также в качестве легко определяемого **маркера гиперкоагуляционных состояний**.



656037, Россия, г. Барнаул, а/я 1351
 ООО фирма «ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»
 Тел./факс: (3852) 22-99-39, 27-13-00
 E-mail: mail@tehnologia-standart.ru
[http:// www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru)

ТЕХНОЛОГИЯ  **СТАНДАРТ**