The background of the cover is a pair of hands, palms up, holding a large, teardrop-shaped drop of red blood. The hands are positioned symmetrically, with the fingers slightly curled. The lighting is soft, highlighting the texture of the skin and the vibrant red color of the blood drop. The overall composition is centered and balanced.

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский государственный медицинский
университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Медико-фармацевтический колледж

« ГЕМОСТАЗ »

Учебно-методическое пособие

**ПМ. 03 «Проведение лабораторных биохимических исследований»
Специальность 31.02.03 Лабораторная диагностика**

Уровень образования: базовый, повышенный
Для преподавателей и студентов.

2020

Рассмотрено
На заседании ЦМК «Фармации и
лабораторной диагностики»
«25» февраля 2020 г. председатель ПолOMEева О.А.

«Утверждаю»
Зам. директора по учебной работе
О.Н. Барабанова
« 25 » февраля 2021г.



Гузарова, Н.Б. Гемостаз: Учеб.-метод. Пособие. – Томск: ТМФК, 2020. - 49с.

АВТОР:

Гузарова Н.Б. – преподаватель высшей категории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России Медико-фармацевтический колледж.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Климентьева Т.К. - к. б.н., доцент каф. Биохимии и молекулярной биологии ФГБОУ ВО Сиб.ГМУ Минздрава России.

Перфильева Н.В. - преподаватель высшей категории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России Медико-фармацевтический колледж.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Гемостаз	5
Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз	6
Коагуляционный гемостаз	8
Противосвертывающая система крови	11
Фибринолиз	11
Нарушение гемостаза	13
Нарушение сосудисто-тромбоцитарного гемостаза	13
Нарушение коагуляционного гемостаза	14
Микроваскулиты	16
ДВС – синдром	16
Современные подходы к диагностике гемостаза	20
Первый этап – направление на исследование	20
Второй этап - преаналитический	21
Третий этап - аналитический	24
Исследование сосудисто-тромбоцитарного гемостаза	24
Исследование плазменно- коагуляционного гемостаза	26
Конечные этапы свертывания крови	28
Приборное исследование системы гемостаза	32
Нормальные показатели гемостаза	39
Задания для контроля знаний по теме «Гемостаз»	40
Диктант	40
Варианты письменных работ	41
Тестовый контроль	43
Литература	47

ВВЕДЕНИЕ

Исследования системы гемостаза - важный раздел современной лабораторной диагностики.

Система гемостаза не существует в организме изолировано. Она связана функционально и биохимически с другими физиологическими системами, прежде всего, с системой иммунитета, сердечнососудистой, дыхательной и др. Это означает, что процессы, изменения и патология одной из них отражаются на активности гемокоагуляции и, наоборот, патология гемостаза обязательно сказывается на функционировании других звеньев гомеостаза. Понимание роли, изменений системы гемостаза в патофизиологии заболеваний требует повышение качества методического подхода к оценке результатов.

Современная оценка системы гемостаза отличается, прежде всего, своим избирательным характером, позволяющим за короткое время оценить состояние конкретных участков сложной цепи, взаимопревращений факторов свертывания крови. На смену и в дополнение к широко распространенным методам исследования гемостаза приходят современные специфические методы исследования, информативно отражающие активность практически любого компонента системы гемостаза.

В связи с выше изложенным, в процессе подготовки студентов по специальности 060110 «Лабораторная диагностика» следует обратить особое внимание на изучение темы «Гемостаз», так как изложение темы в учебнике отсутствует. Данное пособие должно восполнить этот пробел. После изучения темы «Гемостаз» студенты должны:

- **знать** физиологию гемостаза и основные группы заболеваний с его нарушением, лабораторные показатели гемостаза;
- **иметь представления:** о методах определения показателей, характеризующие сосудисто-тромбоцитарную, плазменно-коагуляционную фазу гемостаза, фибринолитическое звено и антикоагуляционную активность;
- **уметь** интерпретировать результаты проведенных тестов с позиции «норма-патология».

Учебно-методическое пособие предназначено для студентов специальности 060110 «Лабораторная диагностика» базового, повышенного уровня обучения и отделения профессиональной переподготовки.

ГЕМОСТАЗ

“Гемостаз” - это биологическая система, которая с одной стороны участвует в поддержании целостности стенок кровеносных сосудов и жидкого состояния крови, а с другой - обеспечивает предупреждение и остановку кровотечения.

В организме здоровых людей кровеносные сосуды подвергаются “физиологической” травматизации и разрывам вследствие движения, растяжения или сдавливания тканей, резких изменений внутрисосудистого давления и других причин. Система гемостаза в значительной степени предупреждает и ослабляет эти явления путем поддержания достаточно высокой резистентности стенок микрососудов и быстрого закрытия дефектов в них тромбоцитами. Локализованность процесса тромбообразования и предотвращение распространения его по всему сосудистому руслу обеспечивается как сосудисто – тканевыми изменениями в зоне повреждения, так и нормальным функционированием фибринолитической системы и эндотелия.

В системе гемостаза участвуют три функционально-структурных компонента: 1– клетки крови (преимущественно тромбоциты), 2– плазменные факторы, 3– сосудистая стенка.

Тромбоциты в сосудистом русле занимают пристеночное положение.

К неповрежденной сосудистой стенке они не прилипают, так как этому препятствует отрицательный заряд энтимы и наличие в ней веществ, ингибирующих их взаимодействие с субэндотелием.

Участие тромбоцитов в гемостазе связано с их способностью:

1. поддерживать нормальную структуру и функцию микрососудов (ангиотрофическая функция тромбоцитов).
2. высвобождать вазоактивные вещества (сертонин, гистамин, катехоламины).
3. образовывать первичную пробку, приклеиваться к субэндотелию в месте его повреждения (адгезия) и склеиваться между собой (агрегация).
4. участвовать в регуляции коагуляционного гемостаза, выделяя в кровь тромбоцитарные факторы свертывания.

Тромбоцитарные (пластинчатые) факторы обозначаются буквой P с цифровым индексом (арабские цифры). Их известно 11. Основные:

P_3 – тромбоцитарный тромбопластин, или тромбоцитарный фактор. Он освобождается после разрушения тромбоцитов и используется в 1 фазе свертывания крови.

P_4 – антигепариновый – связывает гепарин и таким путем ускоряет процесс гемокоагуляции.

P_5 – свертывающий фактор, или фибриноген, определяет адгезию (клейкость) и агрегацию (скупивание) тромбоцитов.

P_6 – тромбостенин - обеспечивает уплотнение и сокращение кровяного сгустка.

P_{10} - сосудосуживающий - серотонин, адсорбирует тромбоциты из крови, суживает поврежденные сосуды и уменьшает кровопотерю.

P_{11} – фактор агрегации - АДФ, обеспечивает агрегацию тромбоцитов.

В настоящее время плазменных факторов известно 13. Они обозначаются римскими цифрами.

Ф I (фибриноген) - фибриллярный белок, находящийся в плазме в растворенном состоянии.

Ф II (протромбин) – кальцезависимый белок, предшественник тромбина - фермента, катализирующего превращение фибриногена в фибрин.

Ф III (тканевой тромбопластин) - освобождается при повреждении тканей. Поступая в плазму крови, он действует на протромбин, превращая его в тромбин.

Ф IV (ионы Ca^{+2}) - принимает участие в процессе свертывания на разных его этапах.

Ф V – XI – факторы влияющие на образование тромбокиназы.

Ф XII (фактор контакта или фактор Хагемана) - с него начинается процесс свертывания крови.

Ф XIII (фибринстабилизирующий фактор или фибриназа) - участвует в переходе растворимого фибрина в нерастворимую форму.

Все факторы крови находятся в неактивном состоянии, но при повреждении сосудистой стенки происходит их быстрая активация.

Активные факторы обозначаются буквой - “ а ”.

Плазменные факторы – большинство из них ферменты, которые синтезируются в печени. Для синтеза факторов II, VII, IX, X необходим витамин К.

Участие сосудов в гемостазе определяется не только спазмом при повреждении, но и наличием в их стенке (в основном в субэндотелии) важнейших стимуляторов адгезии и агрегации тромбоцитов, свертывания крови, фибринолиза, формирования полноценного сгустка – коллагеновых волокон, микрофибрилл, компонентов базальной мембраны.

В зависимости от размеров поврежденного сосуда и ведущей роли отдельных компонентов в ограничении кровопотери различают два механизма гемостаза: первичный или сосудисто-тромбоцитарный и вторичный или коагуляционный.

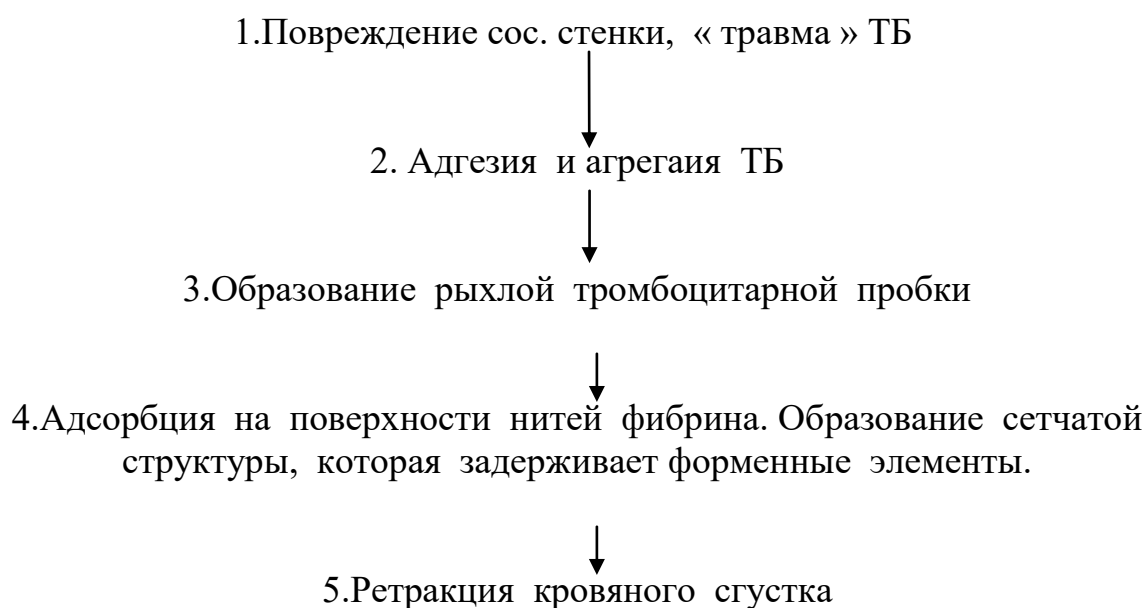
СОСУДИСТО - ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ

Этот механизм способен самостоятельно прекратить кровотечение из микроциркуляторных сосудов с низким артериальным давлением. Он складывается из ряда последовательных процессов: Приложение № 1.

1. Рефлекторный спазм поврежденных сосудов – эта реакция обеспечивается сосудосуживающими веществами, освобождающимися из

- тромбоцитов (серотонин, адреналин, норадреналин). Спазм приводит лишь к временной остановке или уменьшению кровотечения
2. Адгезия тромбоцитов к месту травмы. Данная реакция связана с изменением отрицательного электрического заряда сосуда в месте повреждения на положительный. Отрицательно заряженные тромбоциты прилипают к обнажившимся волокнам коллагена базальной мембраны. Адгезия тромбоцитов обычно завершается за 3 – 10 секунд.
 3. Обратимая агрегация тромбоцитов. Она начинается почти одновременно с адгезией тромбоцитов. Главным стимулятором этого процесса являются
 4. «внешняя АДФ», выделяющаяся из поврежденного сосуда, и «внутренняя АДФ», освобождающаяся из тромбоцитов и эритроцитов. Образуется рыхлая тромбоцитарная пробка, которая пропускает через себя плазму крови.
 5. Необратимая агрегация тромбоцитов. Тромбоцитарная пробка становится непроницаемой для крови. Эта реакция возникает под влиянием тромбина, изменяющего структуру тромбоцитов. Тромбоциты теряют свою структурность и сливаются в гомогенную массу. Тромбин разрушает мембрану тромбоцитов, и их содержимое поступает в кровь. На агрегатах тромбоцитов образуется небольшое количество нитей фибрина, в сетях которого задерживаются эритроциты и лейкоциты.
 6. Ретракция тромбоцитарного тромба – его уплотнение и закрепление в поврежденных сосудах за счет тромбостенина, выделяемого тромбоцитами.

СХЕМА СОСУДИСТО - ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ



КОАГУЛЯЦИОННЫЙ ГЕМОСТАЗ

Сосудисто-тромбоцитарные реакции обеспечивает гемостаз лишь в сосудах с низким кровяным давлением. Они же начинают гемостаз и в крупных сосудах, но тромбоцитарные пробки не выдерживают высокого давления и вымываются. В таких сосудах остановка кровотечения может быть достигнута путем образования фибринового тромба, представляющего собой более прочную пробку. Его образование осуществляется ферментативным коагуляционным механизмом, протекающим в три фазы.

В конце XIX века русский ученый А.А. Шмидт предложил теорию, согласно которой процесс свертывания крови проходит в три фазы.

Фаза I – образование тромбокиназы.

Фаза II – образование тромбина.

Фаза III – образование фибрина.

Все эти процессы протекают в присутствии ионов кальция (Ca^{2+}).

Фаза I – образование тромбокиназы. В этом процессе различают внешний (тканевый) и внутренний (кровяной) путь. Приложение № 2.

Внешний путь свертывания крови включается при повреждении тканей. Из них в кровь поступает тканевой тромбопластин (фактор III). Взаимодействуя с фактором VII, в присутствии ионов Ca^{2+} , он активирует фактор X. Активированный Xa фактор вместе с фактором V и P_3 (тромбоцитарным) в присутствии ионов Ca^{2+} образуют комплекс «активная тромбокиназа».

Внутренний путь включается при изменении состояния сосудистой стенки. При соприкосновении крови с поврежденной поверхностью сосуда активируется фактор контакта XII, который действует на фактор XI, приводя его в активное состояние. Фактор XIa активирует фактор IX, он, в свою очередь, активирует фактор VIII. Активированные IX и VIII факторы в присутствии ионов Ca^{2+} действуют на X. X активный фактор, вместе с V фактором, и P_3 тромбоцитов, в присутствии ионов Ca^{2+} образует комплекс «активная тромбокиназа». На этом заканчивается первая фаза процесса свертывания крови.

Фаза II – образование тромбина. Появление комплекса «активная тромбокиназа» начинает вторую фазу свертывания крови – образование тромбина. Под воздействием тромбокиназы протромбин превращается в тромбин. Этот процесс протекает практически мгновенно – за 2 – 5 секунд.

Фаза III – образование фибрина. Эта фаза протекает в три этапа. На первом этапе под влиянием тромбина от молекулы фибриногена отщепляется небольшой фрагмент – фибрин мономер. На втором этапе под влиянием ионов Ca^{2+} происходит полимеризация: момеры соединяются между собой, образуя фибрин полимер (растворимый фибрин S). На третьем этапе, при участии фактора XIII (фибрин стабилизирующего), образуется фибрин i – нерастворимый. Этим заканчивается процесс гемокоагуляции.

Таким образом, процесс свертывания крови представляет собой цепь последовательных ферментативных реакций, в котором активизированные ферменты предыдущих реакций служат катализаторами для активации последующих факторов.

Внутренний механизм свертывания протекает медленно – за 5 –10 минут. Большая часть этого времени уходит на первую фазу, а вторая и третья фазы протекают за 20 – 30 секунд. По внутреннему механизму происходит свертывание крови и в пробирке при ее контакте со стеклом.

Внешний путь процесса свертывания крови протекает быстро, он длится около 20 секунд и служит пусковым для внутреннего механизма свертывания. Кроме того, образующееся при этом небольшое количество тромбина стимулирует агрегацию тромбоцитов и освобождение клеточных факторов гемостаза.

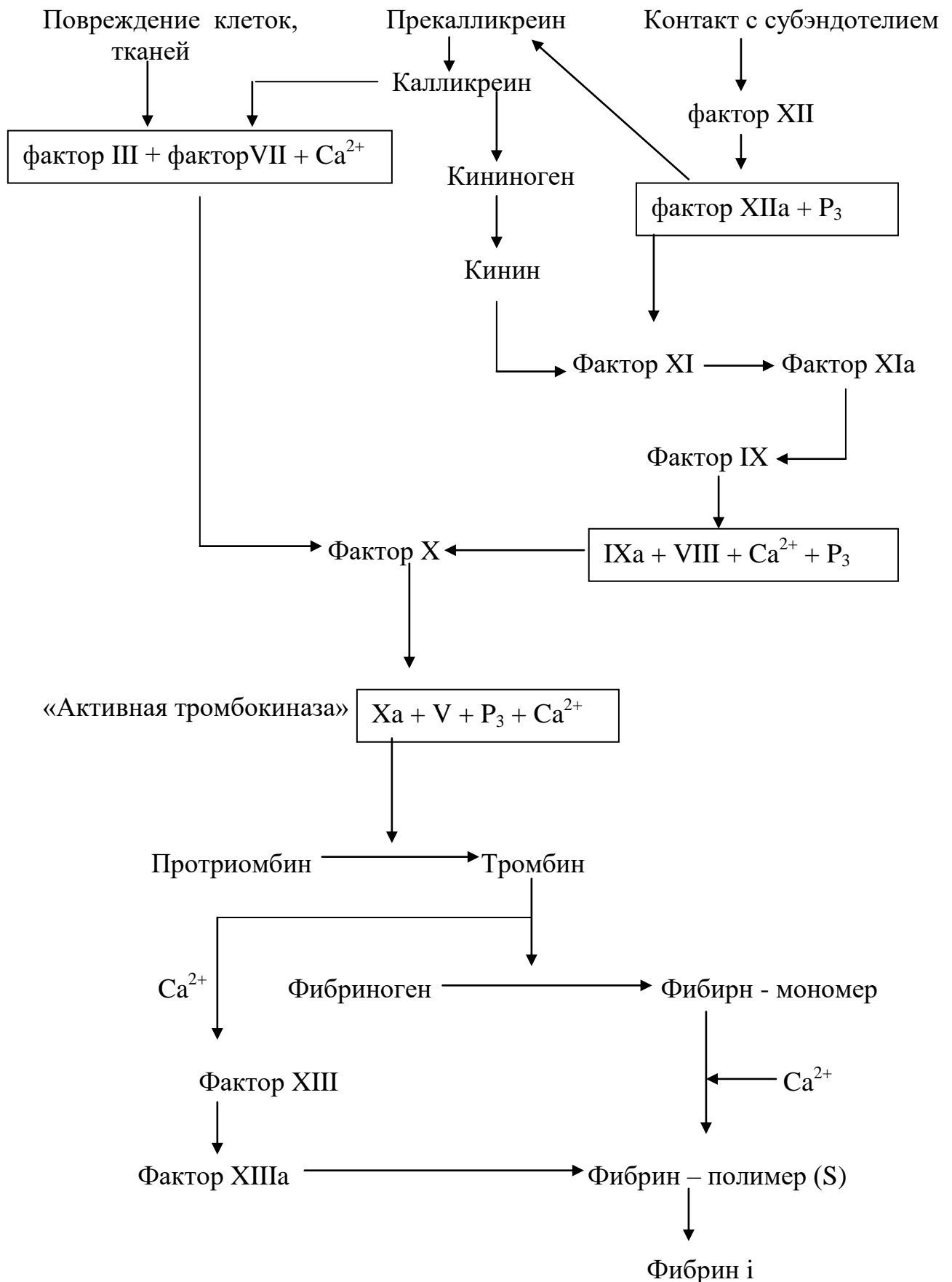
Внутренний и внешний механизмы свертывания не изолированные, а тесно взаимосвязанные процессы. Связь осуществляется с помощью каллекреин-кининовой системы. Каллекреины и кинины – это белковые вещества, предшественники которых синтезируются в печени. Каллекреин-кининовая система стимулируется XIIa фактором. Она ускоряет активацию факторов XI (внутреннего) и VII (внешнего) механизма свертывания крови.

В результате процесса свертывания образуется сгусток крови. Через 15 – 20 минут начинается его ретракция, т.е. сокращение. Этот процесс протекает под действием тромбостенина. Ретракция продолжается от 30 минут до 30 часов.

СХЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

ВНЕШНИЙ МЕХАНИЗМ

ВНУТРЕННИЙ МЕХАНИЗМ



ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩАЯ СИСТЕМА КРОВИ

Свертывание крови – защитный механизм, который предохраняет организм от значительных кровопотерь. В физиологических условиях кровь находится в сосудах в жидком состоянии. Сохранение крови в сосудистом русле в жидком состоянии обеспечивается динамическим равновесием между свертывающей и противосвертывающей системами крови.

Противосвертывающая система крови представлена двумя группами антикоагулянтов:

1. Физиологическими, которые образуются независимо от свертывания крови и фибринолиза.
2. Антикоагулянтами, которые образуются в процессе свертывания крови и фибринолиза.

Первая группа антикоагулянтов. К физиологическим антикоагулянтам относятся – антитромбокиназы, антитромбины, гепарин и др.

Антитромбокиназы – тормозят начальную фазу свертывания крови. Угнетают активность образовавшейся тромбокиназы.

Антитромбины - замедляют переход протромбина в тромбин. Препятствуют воздействию тромбина на фибриноген.

Гепарин: 1. Нарушает образование тромбокиназы.

2. Инактивирует тромбин.

3. Связывает фибриноген.

Т.е гепарин тормозит все фазы процесса свертывания.

Вторая группа антикоагулянтов. Ко второй группе антикоагулянтов относятся вещества, которые образуются в результате свертывания крови и фибринолиза и обладают антикоагуляционными свойствами.

Одновременно со свертыванием крови осуществляется и самоторможение этого процесса. Каждый активированный фактор свертывания тормозит действие активатора.

ФИБРИНОЛИЗ

Фибринолиз (растворение сгустка) - это ферментативный процесс, в котором также принимают участие активаторы и ингибиторы. Приложение № 3.

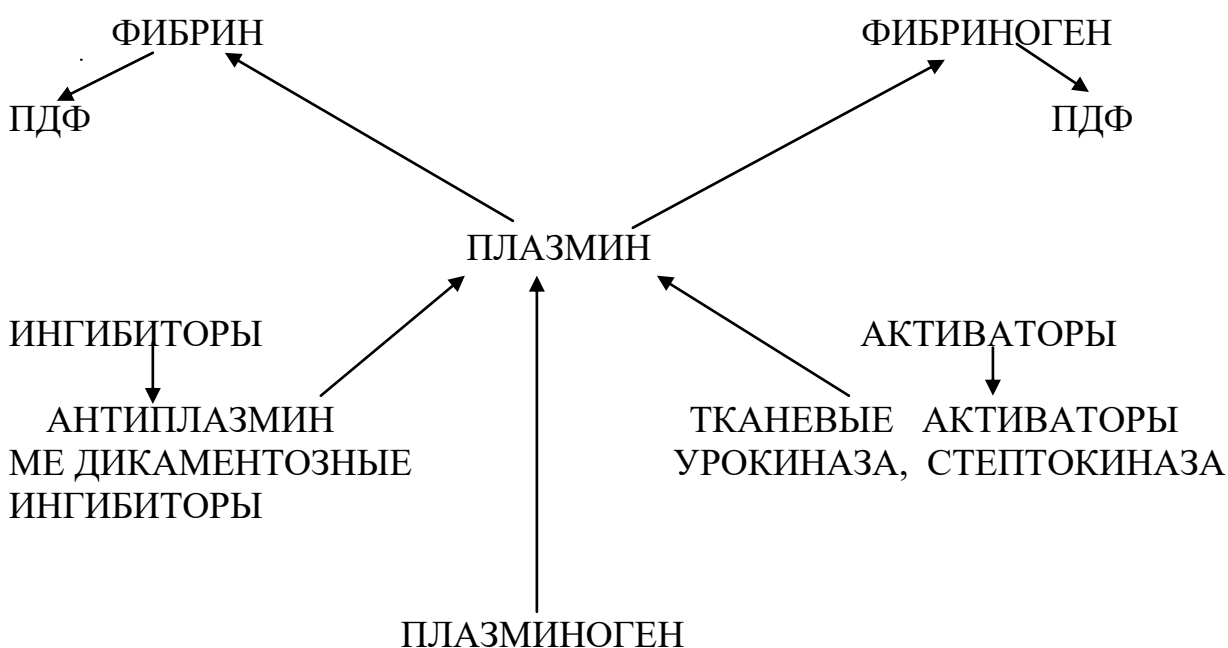
Основной фермент фибринолиза – плазмин или фибринолизин, который содержится в плазме в виде неактивного предшественника – плазминогена, синтезируемого в почках и циркулирующего в крови.

Активация плазминогена осуществляется специфическими тканевыми активатором плазмينا, которая активируется при контакте с фибрином. Наибольшее количество этого активатора имеется в тканях легких, в матке и предстательной железе. Образование плазмина происходит также под действием протеолитического фермента урокиназы, присутствующего во многих тканях, фермента стрептокиназы гемолитического стрептококка. Активацию плазминогена усиливают катехоламины, трипсин, ф.ХПа. Плазмин расщепляет фибрин,

фибриноген, протромбин, тромбин. Тормозит его действие ингибитор – антиплазмин. Приложение № 3.

Фибринолитическая система связана со свертывающей системой. Ее активация происходит одновременно с началом свертывания крови, с активацией фактора XII. В результате фибринолиза растворяются образовавшиеся сгустки крови и фибрин, отложившийся в протоках желез, в мальпигиевых тельцах почки. Этим обеспечивается восстановление кровотока, проходимость протоков желез, нормальное мочеотделение.

СХЕМА ФИБРИНОЛИЗА



ПДФ – продукты деградации фибрина, фибриногена.

НАРУШЕНИЕ ГЕМОСТАЗА

Нарушение процесса гемостаза называется коагулопатией. Согласно решению Международного Комитета по гемморогиям и тромбозам, в основу классификации заболеваний гемостаза положены пусковые и ведущие механизмы нарушения свертываемости крови. Отсюда различают два вида коагулопатий: одни сопровождаются кровотечениями и называются – геморрагическими диатезами, при других наблюдается склонность к тромбозам.

Геморрагические диатезы – это различные заболевания, общим признаком которых является склонность к кровоточивости.

В зависимости от механизмов возникновения их разделяют на несколько групп.

1. Нарушение тромбоцитарного гемостаза.
 - 1.1. Тромбоцитонемия
 - 1.2. Тромбоцитопатия.
2. Нарушение коагуляционного гемостаза.
 - 2.1. Наследственные.
 - 2.2. Приобретенные.
3. Микротромбоваскулиты.
4. ДВС-синдром, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

1. Нарушение преимущественно тромбоцитарного гемостаза.

В этот раздел включены патологические состояния, в основе которых лежит уменьшение числа тромбоцитов или их неполноценность.

1.1 Тромбоцитонемия.

К этой группе заболеваний относят состояния ускоренного разрушения или недостаточного образования тромбоцитов.

ПРИМЕР. Тромбоцитопеническая пурпура или болезнь Верльгофа. Характеризуется значительным уменьшением продолжительности жизни тромбоцитов до 2-4 часов, вместо 7-10 дней и их ускоренным созреванием.

Основные клинические проявления – геморрагический синдром: экхимозы на передней поверхности конечностей и туловища, кровоизлияния в местах инфекций, высыпания на нижних конечностях, реже в конъюнктиве, на губах. Изредка бывают кровотечения из ЖКТ, возможна гематурия.

ЛАБОРАТОРНО: снижение, а иногда отсутствие тромбоцитов, увеличение размеров тромбоцитов, появление мелкозернистых клеток, рост количества мегакариоцитов в костном мозге. Содержание Нв и Эр может быть в норме. Лейкоцитов в норме или немного увеличено. Удлиняется время кровотечения по Дьюку, уменьшена ретракция кровяного сгустка. Время свертываемости крови и тромбопластинов не изменены.

Тромбоцитопении могут быть аутоиммунные, гетероиммунные, появление антитела против чужеродного антигена, фиксированном на Т-ах.

Таким антигеном могут быть лекарственные вещества, вирус; изоиммунные (несовместимость между матерью и плодом).

1.2 Тромбоцитопатии.

Это нарушение гемостаза, связанное с качественной неполноценностью тромбоцитов или их дисфункцией.

Типы функциональной неполноценности тромбоцитов могут быть различны. Это и дефект белковой мембраны клеток, и ферментативная недостаточность и нарушения реакции адгезивности и агрегации.

ПРИМЕР. Болезнь Виллебранда – геморрагический диатез с дефектом функции адгезии и агрегации тромбоцитов – характеризуется длительными кровотечениями, возникающими даже при незначительной травме. Частые носовые кровотечения, при пальпации возникновение синяков.

ЛАБОРАТОРНО: количество тромбоцитов нормально или немного снижено. Значительно увеличено время кровотечения по Дьюке. Снижение адгезивности тромбоцитов к стеклу, недостаточность тромбоцитарного фактора 3.

Различного типа дисфункции тромбоцитов могут возникать под влиянием лекарств. Хорошо известны антиагрегатные свойства ацетилсалициловой кислоты, индометанил. Угнетающее действие на тромбоциты оказывают алкоголь и чеснок.

2. Нарушение коагуляционного гемостаза.

В основе нарушений свертывающего звена могут лежать разные механизмы: дефицит факторов свертывания, как количественный (недостаточный синтез), так и качественный (присутствие неактивных мол. форм), комбинация обеих причин, ингибирование или повышенное потребление свертывающих факторов, а также наличие избыточного количества антикоагулянтов. Коагулопатии могут быть как врожденные так и приобретенные. В основе врожденных коагулопатий, лежит генетически обусловленный дефицит, одного из факторов свертывания. Как правило, это заболевание, передаваемое по наследству.

2.1. Наследственные коагулопатии.

97% составляют разные виды гемофилии. Гемофилия групповое понятие, объединяющее три различных дефекта свертывания: дефицит фактора VIII (гемофилия А), дефицит фактора IX (гемофилия В), и дефицит фактора XI (гемофилия С).

Наиболее частой формой является гемофилия А, в основе которой лежит дефицит коагулянтной части фактора VIII. Синтез коагулянтной части фактора VIII контролируется рецессивным геном х-хромосомой, поэтому у женщин, имеющих вторую х-хромосому как правило не бывает гемофилии. Они являются переносчицами этого заболевания, т.к. передают

патологический ген с х-хромосомой сыновьям, которые заболевают гемофилией.

Клиническая картина заболевания характеризуется повышенной кровоточивостью при травмах, порезах, образовании подкожных и внутримышечных гематом, с поражением опорно-двигательного аппарата. Заболевание проявляется, как правило, в детском возрасте.

Основными лабораторными показателями, характерными для всех форм гемофилии, являются, удлинение времени свертывания крови, удлинение гепаринового времени, нарушение потребления протромбина в процессе свертывания крови и резкое снижение тромбопластинообразования. Дифференциация различных форм гемофилии осуществляется при помощи теста Бигге-Дугласа, а также с помощью тестов смешивания.

2.2. Приобретенные коагулопатии.

Приобретенные коагулопатии носят вторичный характер, возникая на фоне какой-либо клинической ситуации. Причиной их обычно бывает К-авитаминоз, вызванный или нарушением всасывания витамина в кишечнике или неполном использовании его в печени. Витамин К необходим для предшественников факторов 2, 7,9,10, в окончательные формы. Дефицит этих прокоагулянтов в первую очередь обуславливает изменения во второй фазе свертывания.

Чаще всего коагулопатии проявляются:

- У новорожденных, вследствие прекращения поступления витамина К через плаценту, ликвидируется после заселения кишечника ребенка нормальной микрофлорой.
- При заболеваниях паренхимы печени (нарушение синтеза факторов 9,10, 2, 9) на более ранних его этапах, чем при К-авитаминозе, а также ингибиторов фибринолиза.
- При тяжелых энтеропатиях (особенно у детей), лекарственных кишечных дисбактериозах, вследствие нарушения синтеза и всасывания витамина К.
- При заболеваниях поджелудочной железы.
- Поражение кроветворного аппарата (острый лейкоз)
- В период лечения некоторыми лекарствами (например, салицилатамин).
- При передозировке антикоагулянтов.
- При эмоциональном напряжении и стрессе.

ЛАБОРАТОРНО: число тромбоцитов чаще в норме. Время свертывания крови удлинено. Удлинение время рекальцификации плазмы и частично тромбопластиновое время и другие коагуляционные тесты.

3. Микротромбоваскулиты.

Группа состояний связанных с нарушением сосудистой стенки. Чаще развиваются как вторичные поражения при системных иммунных заболеваниях, лекарственной терапии, аллергии, инфекциях и т.д.

НАПРИМЕР. Геморрагический васкулит (болезнь Шеплейн-Геноха), в основе лежат асептическое воспаление и нарушение микроструктуры стенки микрососудов, множественное микротромбообразование.

Отличается многообразием клинических вариантов. Поражаются сосуды кожи, почек и других органов. Дефицит витамина С также является причиной геморрагических диатезов. Это объясняется нарушением формирования коллагена – основного межклеточного вещества.

ЛАБОРАТОРНО: время свертывания крови и время рекальцификации плазмы незначительно удлиняется. Количество фибрина увеличено. В тяжелых случаях при значительных кровопотерях может развиваться анемия, ретикулоцитоз, лейкоцитоз. СОЭ-увеличена.

4. ДВС-синдром, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

ДВС – синдром представляет собой общепатологический процесс, вызванный проникновением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов, а также активаторов фибринолиза.

Пусковым механизмом ДВС – синдрома являются продукты распада клеток, тканей, тканевой тромбопластин, иммунные комплексы.

К развитию ДВС – синдрома приводят:

1. Инфекционные процессы. Сепсис.
2. Все виды шока (травматический, ожоговый и др.). Чем тяжелее и длительнее течение шока, тем чаще возникает и тяжелее протекает ДВС – синдром.
3. Обширные хирургические операции, особенно на паренхиматозных органах – поджелудочная железа, печень, легкие, селезенка, матка.
4. Массивные кровопотери и переливания крови.
5. Иммунопатологические процессы – системная красная волчанка, ревматизм, аллергические реакции.
6. Термические и химические ожоги.
7. Злокачественные опухоли, особенно кроветворной ткани.
8. Акушерская патология – внутриутробная гибель плода, предлежание плаценты и др.
9. Инфаркт миокарда.
10. Острый панкреатит.
11. Операции на сосудах.

Механизм развития ДВС – синдрома.

Активация системы гемостаза идет по трем механизмам:

1. Активация первичного гемостаза при васкулитах, атеросклерозе, ГБ, ИБС. Изменение тромбоцитов и стенок капилляров при аллергических, иммуно-аллергических реакциях, васкулитах, при вирусных заболеваниях.

2. Активация вторичного гемостаза:

а). По внешнему пути - при обширных травмах (операции на легких, сердце, матке, предстательной железе), при внутриутробной смерти плода, при абортах.

б). По внутреннему механизму - при шоке, ревматизме, переливании крови.

3. Активация первичного и вторичного гемостаза - при несовместимости крови, гемолитической анемии, при пересадке органов, лейкозах, обморожении, ожогах.

Стадии ДВС – синдрома.

Различают четыре последовательно развивающиеся стадии ДВС-синдрома.

1. Стадия гиперкоагуляции – на этой стадии происходит резкое повышение адгезивности тромбоцитов, и в связи с этим активация первой фазы свертывания, и повышение концентрации фибриногена.

В периферических сосудах происходит образование сгустков крови, образуются тромбы в мелких сосудах. Это тромбирование вызывает значительную ишемию тканей различных органов, тромбирование происходит во всем организме, поэтому синдром называется диссеминированным (рассеянным).

2. Стадия - коаулопатия потребления. В результате диссеминированного внутрисосудистого свертывания уходят основные ресурсы факторов свертывания крови (фибриноген, протромбин), они становятся дефицитными. Такое истощение приводит к тому, что развивается кровотечение из основного источника, а также возможны кровотечения из других сосудов - в слизистую, в жировую ткань. В результате кровь теряет способность к свертыванию. И на этой же стадии активируется фибринолитическая система. Это приводит к тому, что образовавшиеся сгустки крови начинают рассасываться, в том числе сгустки, которые закупорили кровоточащие сосуды.

3. Стадия - фибринолиз. Он начинается как защитная реакция, но в результате рассасывания сгустков кровоточащих сосудов происходит усиление кровотечения, которое приобретает профузный характер. Все ткани, как губка, начинают кровоточить. Если лечение было эффективным то этот процесс можно остановить на любой из стадий, в том числе и на стадии фибринолиза. Тогда развивается 4 – фаза.

4. Стадия - восстановления. Здесь на первый план начинают выходить признаки полиорганной недостаточности. В результате длительной ишемии возникает сердечно-сосудистая недостаточность.

Возможно нарушение мозгового кровообращения. При неблагоприятном течении фаза исходов и осложнений.

Формы ДВС – синдрома.

1. Острый ДВС – синдром – развитие идет в пределах суток.
2. Подострый ДВС – синдром -развивается в течении нескольких суток-недель. Характеризуется постепенным развитием коагуляционных сдвигов.
3. Хронический ДВС – синдром протекает в течении многих недель, месяцев. Развивается на фоне флеботромбозов и ишемических явлений в течении долгого времени обнаруживается гиперкоагуляция.

Диагностика ДВС- синдрома

Для первоначального выявления ДВС – синдрома проводят следующие лабораторные анализы:

1. Определение числа тромбоцитов.
2. ПДФ в плазме.
3. Паракоагуляционные тесты (этаноловый, протаминсульфатный).

При положительных паракоагуляционных тестах и повышенном уровне ПДФ вероятность ДВС – синдрома -96%-97%. Для уточнения фазы и динамики, а также эффективности лечения ДВС- синдрома проводят дополнительные определения:

1. время свертывания крови (первичный гемостаз).
2. ретракция кровяного сгустка (первичный гемостаз).
3. протромбиновое время (плазменное звено).
4. протромбиновый индекс (плазменное звено).
5. активированное частичное тромбопластиновое время, АЧТВ (плазменное звено).
6. тромбиновое время (плазменное звено).
7. фибриноген.
8. антитромбин – III.

Типичным лабораторным признаком для ДВС – синдрома является выявление одними коагуляционными тестами гиперкоагуляцию, другими – гипокоагуляцию. Приложение № 4, 5.

Отличие ДВС – синдрома от локального функционального свертывания крови.

1. У здорового человека образование тромба идет локально - только в месте повреждения.
2. Свертывание крови у здорового человека не влияет на содержание факторов свертывания и активацию тромбоцитов (в норме они продолжают циркулировать в неактивном состоянии).
3. У здорового человека не возникает нарушения функции органа, где происходит свертывание.

ДИАГНОСТИКА ДВС - СИНДРОМА (по биохимическим показателям)

№ п/п	Исследуемый показатель	Норма	Фазы (стадии) ДВС - синдрома			
			I	II	III	IV
1	Тромбоциты	150- 400000	300000	≥ 15000	< 100000	> 200000
2	Время свертывания (мин)	5 - 10	≤ 4	10	12 - 20	7 - 10
3	Протромбиновое время (сек)	15 - 20	≤ 17	20	> 22	15 - 22
4	Фибриноген (г/л)	2 - 4	3	2 - 3	2	3 - 6
5	Тромбиновое время (сек)	25 - 30	≤ 28	30	≥ 35	25
6	Этаноловый тест	Отриц.	+	+	\pm	—
7	Протамин – сульфатный тест	Отриц.	+	+	+	\pm
8	Продукты деградации фибриногена	< 2	≥ 20	≥ 15	> 10	> 15
9	Наличие обломков эритроцитов в мазке крови	нет	Единичные в препарате	Единичные в препарате	1 – 2 в поле зрения	Единичные в препарате

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОСТАЗА

Основные этапы организации диагностики системы гемостаза

Первый этап - направление на исследование

Исследование системы гемостаза проводится по направлению лечащего врача.

Диагностически значимыми предпосылками для исследования гемостаза являются:

- кровоточивость
- тромбофилия
- послеоперационный (послеродовой) период
- неотложные и критические состояния
- заместительная терапия компонентами крови, лечение антикоагулянтами, антиагрегантами, фибринолитиками.

К методам исследования свертывающей системы крови относится ряд морфологических, биохимических и инструментальных анализов.

1. Время свертывания крови, время рекальцификации плазмы дают общее представление о внутреннем механизме первой фазы процесса свертывания.
2. Определение активности факторов протромбинового комплекса характеризует внешний механизм первой фазы процесса свертывания и вторую его фазу.
3. Исследование концентрации фибриногена отражает сущность третьей фазы процесса свертывания.
4. Процесс фибринолиза исследуется с помощью определения фибринолитической активности эуглобулиновой фракции плазмы.
5. Для диагностики различных патологий гемостаза существуют дифференциальные тесты, позволяющие обнаружить дефицит каждого фактора в отдельности. Эти сложные методы исследования производят в специализированных коагулологических лабораториях.

Для качественной диагностики и достоверности заключения необходимо обращать внимание на направление на обследование.

Кроме обычных граф оно должно включать:

- время взятия крови для исследования;
- клинический диагноз, цель обследования;
- указания о наличии геморрагических (носовых, маточных и др. кровотечений) и/или тромботических проявлений, шок, полиорганной недостаточности, травмы (ожоговой и др);

- информацию о проводимом лечении, способном оказать влияние на параметры гемостаза;

Второй этап - преаналитический

Преаналитический этап исследования гемостаза включает в себя получение пробы крови, ее стабилизацию и выделения образцов плазмы.

Исследуемый материал: Венозная кровь (сыворотка, плазма), капиллярная кровь.

Взятие венозной крови проводит медсестра, капиллярной крови – лаборант.

Методика взятия крови из вены. Кровь у обследуемого берут утром, натощак путем пункции локтевой вены.

Кровь в пробирки набирают свободным током, перемешивая ее с антикоагулянтом покачиванием или легким встряхиванием, не допуская образования воздушных пузырьков. До центрифугирования пробирки ставятся в ледяную баню (кружка со льдом и водой). Кровь для исследования функции тромбоцитов охлаждать нельзя. Интервал времени между забором крови и началом исследования существенно сказывается на многих параметрах коагулограммы. Поэтому в результатах анализа следует отмечать время забора крови и время проведения исследования, чтобы при наблюдении за коагулограммой в динамике интервал времени был одинаков и результаты сопоставимы. Пробирки должны быть мерными или иметь метку, до которой должна быть набрана кровь, чтобы было соблюдено правильное объемное соотношение крови и антикоагулянта – стабилизатора, равное 9:1, если гематокритный показатель близок к нормальному.

Гематокрит – это соотношение между объемом форменных элементов крови и объемом плазмы. В норме объем массы эритроцитов меньше объема плазмы.

Гематокритные величины:

у женщин – 36-42%

у мужчин 40-48%

Избыток антикоагулянта ведет к ложной гипокоагуляции, а недостаток – к частичному или полному свертыванию крови. При значительных отклонениях гематокрита от нормы нужный объем антикоагулянта рассчитывают по формуле:

$$P_x = \frac{P(100 - H)}{595 - H}$$

нужный объем антикоагулянта на данное количество крови, где

P – нужное количество крови

H – гематокритный показатель в %;

У новорожденных кровь и антикоагулянт следует брать в отношении 19:1 (учитывая гипокоагуляцию новорожденных), то же при врожденных пороках сердца, полицитемии.

Взятие крови целесообразно производить не в одну пробирку, а дробно – в несколько пробирок с соответствующей расфасовкой антикоагулянта – стабилизатора.

Антикоагулянты. В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать 3,8% раствор цитрата натрия или тринатрийцитрата, поскольку в цитратной крови (плазме) лучше сохраняется лабильные факторы свертывания крови и тромбоциты.

Раствор оксалата натрия (1,34%) используется ограниченно, так как оксалаты образуют с кальцием растворимое соединение (в плазме появляется мелкая зернистость), ускоряется агрегация тромбоцитов, ускоряется инактивация V и VIII факторов. В ряде тестов определения могут проводиться как на цитратной, так и на оксалатной плазме.

При использовании ЭДТА (1% раствор динатриевой соли этилендиаминотетрацетата) в качестве антикоагулянта из плазмы удаляют ионы Ca, Mg, что снижает адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов. Некоторые тесты могут быть выполнены из плазмы, полученной из капиллярной крови. Такие модифицированные микрометоды используются в экспресс-диагностике, а также в случаях, когда получить кровь из вены не удается.

Обработка лабораторной посуды.

Известно, что отрицательно заряженная поверхность стекла активизирует процесс свертывания крови. Для предотвращения этого процесса посуду силиконировали.

В коагулологической лаборатории силиконированную и не силиконированную посуду во время работы складывают в отдельные лотки, а затем моют, сушат и хранят отдельно друг от друга.

Все пробирки после использования отмывают от сгустков крови и плазмы водопроводной водой при помощи ершей, затем замачивают в моющем растворе не менее чем на 30 мин и моют в моющем растворе и в проточной воде при помощи ершей. Во избежание повреждения поверхности пробирок, ерш обматывают капроновой тканью, а конец ерша поролоном. После мытья прополоскать посуду не менее 15 раз водопроводной, а затем 3-4 раза дистиллированной водой.

Сушку стеклянной посуды производят в сушильном шкафу при температуре 180-200⁰С в течение 1 часа.

Пластиковые пробирки сушат при комнатной температуре или в сушильном шкафу при температуре не выше 60⁰С.

Силиконирование

5% раствором дихлордиметилсилана в толуоле заполняют чистые сухие пробирки, пипетки наполняют при помощи резиновых груш. Силикон из пробирок сливают, а затем из пипеток тщательно выдувают для повторного использования реактива. Всю процедуру проводят в вытяжном шкафу.

После силиконирования посуду сушат в сушильном шкафу при 180-200⁰С в течение 1-2 часа.

После 4-5 кратного использования посуды силиконирование нужно повторить. Однажды просиликонированную посуду не нужно пытаться очистить от силикона и использовать в качестве несиликованной.

В последнее время широкое распространение получили пластиковые пробирки (например, пробирки для коагулологии с 3,8% цитратом натрия Vacuette) и автоматические пипетки. Им следует отдавать предпочтение, поскольку они не нуждаются в силиконировании, лучше калиброваны и легко маркируются.

Центрифугирование

Соблюдение режима центрифугирования особенно важно для диагностики нарушений тромбоцитарного гемостаза, фибринолиза и др. Частоту вращения необходимо рассчитывать с учетом радиуса ротора центрифуги, указанного в пасторте прибора.

Приготовление сыворотки

Венозную кровь набирают в стеклянную несиликонированную пробирку без антикоагулянта и помещают ее на 4 ч в водяную баню при 37⁰С или оставляют при комнатной температуре на 24ч. Отсасывают супернатант, центрифугируют его при 1500 об/мин.

Приготовление стабилизированной крови

В пластиковую или стеклянную силиконированную мерную центрифужную пробирку набирают антикоагулянт и необходимый для исследования объем крови. Отмечают стеклографом на пробирке уровень, до которого должна быть набрана кровь (все расчеты см. выше). Пунктируют локтевую вену, подставляют пробирку и собирают свободно вытекающую кровь до метки. Немедленно перемешивают кровь с антикоагулянтом, не допуская образования воздушных пузырей.

Приготовление богатой тромбоцитами (тромбоцитарной) плазмы.

Стабилизированную кровь центрифугируют при 1000-1500 об/мин (около 300g) в течение 5-7 мин и собирают супернатант

Приготовление бедной тромбоцитами (бестромбоцитарной) плазмы.

Стабилизированную кровь или тромбоцитарную плазму центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1000-1200g) в течении 15-20 мин и собирают супернатант. Тромбоцитарную и бестромбоцитарную плазму отсасывают стеклянными силиконированными или пластиковыми пипетками в стеклянные силиконированные или пластиковые пробирки.

До исследования плазму хранят в ледяной бане.

Исследования должны быть проведены в течение 1-3 ч после взятия крови. Для исследования функциональной активности тромбоцитов их хранят при комнатной температуре.

Тесты должны быть проведены в течение 1 часа.

Получение плазмы из капиллярной крови.

Прокол кожи на пальце проводят глубиной около 4мм. Первые 2 капли крови удаляют, последующие используют для исследования. Кровь из ранки выдавливать не рекомендуется, так как при этом увеличивается примесь тканевого тромбoplastина. Капиллярная кровь стабилизируется и разводится цитратным буферным раствором. Силиконированную пипетку промывают цитратным буфером, набирают вначале 0,2 мл крови и сразу же 0,2 мл цитратного буфера. Содержимое пипетки немедленно выдувают в силиконированную пробирку, содержащую еще 1,6 мл цитратного буфера. Содержимое пробирки тщательно перемешивают. Таким образом, в пробирке содержится 0,2 мл крови, разведенной в 10 раз цитратным буфером.

Третий этап - аналитический

Исследования сосудисто - тромбоцитарно гемостаза (первичный гемостаз)

Подсчет числа тромбоцитов

Исследуемый материал: Кровь венозная цельная, кровь капиллярная.

Условия хранения. Проба стабильна: кровь венозная- 5ч при 23⁰ С, 24ч при 4⁰ С; кровь капиллярная- 3ч.

Примечание. Число тромбоцитов может быть несколько снижено во время менструации, беременности. Вследствие оседания и прилипания тромбоцитов к пробирке возможно снижение их истинного числа (для устранения необходимо применение силиконированной посуды).

Тромбоциты могут быть подсчитаны в окрашенных мазках крови (по методу Фонио), счетной камере Горяева или с помощью автоматического счетчика (гематологического анализатора).

Количество тромбоцитов – 180-320 * 10⁹/л.

Увеличение количества тромбоцитов – тромбоцитоз – усиливает тромбообразование и наблюдается при мегакариоцитарном лейкозе, лимфогрануломатозе, миелолейкозе, болезни Рандю-Ослера, после больших кровопотерь, удалении селезенки.

Снижение количества тромбоцитов – тромбоцитопения – замедляет тромбообразование и отмечается при тромбоцитопенической пурпуре, аплазии костного мозга, В₁₂-дефицитной анемии, ДВС-синдроме, острых и хронических лейкозах, злокачественных новообразованиях, циррозе печени, гепатитах, коллагенозах, заболеваниях щитовидной железы, системной красной волчанке.

Причину изменения числа тромбоцитов в крови определяют путем исследования костного мозга (подсчет числа мегакариоцитов) и определения антитромбоцитарных антител

Адгезивность тромбоцитов

Адгезия тромбоцитов – свойство тромбоцитов прилипать к поврежденной стенке сосуда

Исследуемый материал: Свежая цитратная кровь.

Подготовка пациента. За 7-10 дней до обследования отменяются лекарственные препараты, угнетающие агрегацию тромбоцитов: ацетилсалициловая кислота и её производные, индометацин, фенилбутазон, низкомолекулярные декстраты, трициклические антидепрессанты и др.

Условия хранения. Проба не стабильна. Исследования проводят сразу после взятия крови.

Примечание. Тест адгезии недостаточно специфичен, так как затруднена его стандартизация.

Индекс адгезивности – 20-50%

Снижение этого показателя свидетельствует об уменьшении адгезивной способности тромбоцитов и наблюдается при болезни Виллебранда, острых лейкозах, почечной недостаточности.

Агрегация тромбоцитов

Агрегация тромбоцитов – способность соединяться, менять форму и образовывать клеточный комок.

Исследуемый материал: Цитратная кровь, плазма, богатая тромбоцитами.

Условия взятия крови те же, что и для определения ретенции тромбоцитов.

Условия хранения. Проба стабильна 1-3 ч при комнатной температуре.

Плазму не охлаждать.

Влияющие факторы. Гемолиз, липемия, никотин, гепарин - завышают результаты. Ацетилсалициловая кислота, принимаемая в течение 7- 10 дней до проведения теста, может снизить результаты; диуретики, ибупрофен, индометацин, простагландин E, трициклические антидепрессанты, галотан, окись азота - снижают.

Повышение агрегационной способности происходит в начальный период ДВС-синдрома, при атеросклерозе, тромбозах, инфаркте миокарда, сахарном диабете.

Снижение или отсутствие агрегации свидетельствует о качественной неполноценности тромбоцитов и наблюдается при болезнях Виллебранда, тромбоцитопении.

Время (длительность) кровотечения

Время кровотечения - это время, которое проходит с момента нанесения стандартной раны кожи до момента прекращения вытекания крови (период образования тромбоцитарной пробки), и является тестом, с помощью которого оценивается первичный гемостаз *in vivo*. Время

кровотечения характеризует функциональную активность тромбоцитов и капилляров и не зависит от процессов свертывания крови.

Тест информативен для выявления врожденных и приобретенных функциональных нарушений тромбоцитов и диагностики болезни Виллебранда.

Исследуемый материал: Капиллярная кровь.

Влияющие факторы. Ацетилсалициловая кислота (прием в течение 7-10 дней до исследования), нестероидные противовоспалительные средства, пантотеновый спирт и его дериваты, пенициллин, стрептокиназа, сульфипиразон, урокиназа увеличивают время кровотечения.

В норме длительность кровотечения по Дукке 2-4мин, по Айви - менее 8 мин.

Удлинение времени кровотечения связано с уменьшением числа и (или) функциональной полноценности тромбоцитов и наблюдается при наследственных тромбоцитопениях, ДВС - синдроме, уремии, а также при приеме аспирина и других антикоагулянтов.

Укорочение времени кровотечения чаще всего бывает следствием технической ошибке при проведении теста.

Определение ретракции кровяного сгустка

Ретракция кровяного сгустка – процесс сокращения, уплотнения и выделения сыворотки кровяным сгустком после образования фибрина под действием контрактильного белка, содержащегося в тромбоцитах.

Индекс ретракции – 48-64%.

Снижение ретракции происходит при уменьшении количества тромбоцитов или их функциональной полноценности (тромбоцитопеническая пурпура, лейкозы, анемии, тромбоастения Гланцмана).

Исследования плазменно - коагуляционного гемостаза (Показатели активности 1 и 2 фазы свертывания крови)

Время свертывания крови

Время свертывания крови - это время с момента взятия крови из кровеносного сосуда до момента ее свертывания в стеклянной пробирке. Тест является ориентировочным показателем многоступенчатого ферментативного процесса, в результате которого растворимый фибриноген переходит в нерастворимый фибрин. Свертывание крови определяется активностью факторов плазмы, тромбоцитов, функциональной полноценностью сосудистой стенки.

Исследуемый материал: Кровь цельная нестабилизированная (без добавления антикоагулянта) венозная.

Влияющие факторы гепарин, карбенициллин - увеличивают время свертывания; пероральные контрацептивы - снижают.

Время свертывания крови – время, необходимое для образования нитей фибрина и сгустка крови. Отражает процесс свертывания в целом:

по Ли-Уайту - 5-10 мин.

Увеличение времени свертывания характерно для гипокоагуляции и может быть обусловлено недостатком ряда плазменных факторов свертывания или действием антикоагулянтов. Наблюдается при наследственных нарушениях свертывания (гемофилия), заболеваниях печени (гепатиты, цирроз, длительная механическая желтуха).

Уменьшение времени свертывания указывает на гиперкоагуляцию и наблюдается при приеме контрацептивов, после массивных кровотечениях в послеоперационный и послеродовой период.

При ДВС-синдроме в I стадии оно резко ускорено, а во II и III удлиняется вплоть до полного несвертывания.

Тест ориентировочный и используется, в основном, для экспресс-диагностики тяжелых нарушений свертываемости.

Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ)

Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ) - наиболее чувствительный и точный метод из ориентировочных тестов. Отражает время, необходимое для образования сгустка фибрина в бестромбоцитарной плазме, и характеризует уровни протромбина и тромбина (фактор II).

Среднее значение - 30 – 40 сек. Величина может варьировать в зависимости от используемых реактивов.

Увеличение АЧТВ указывает на снижение свертываемости (гипокоагуляцию), чаще всего из-за дефицита факторов II, V, VIII, IX, XI, XII, что наблюдается при гемофилиях А, В, С, болезни Хагемана, Виллебранта, во II и III фазе ДВС- синдрома и применении гепарина.

Укорочение АЧТВ свидетельствует о повышении свертываемости (гиперкоагуляции) и наблюдается в I фазу ДВС- синдрома.

Исследуемый материал. Цитратная бестромбоцитная плазма.

Немедленно отцентрифугировать и удалить плазму. Плазма стабильна в течение 1ч при 4⁰ С или 28 дней в замороженном состоянии.

АЧТВ увеличивается при введение чужеродного гепарина, пероральных антикоагулянтов.

АЧТВ обычно изменяется при снижении уровня любого из факторов свертывания более чем на 30-40% от нормы. Заниженные результаты могут быть обусловлены “загрязнением” пробы тканевым тромбопластином в результате травмы при венопункции.

АЧТВ может увеличиваться при несоответствии объема антикоагулянта высокому показателю гематокрита.

Активированное время рекальцификации плазмы (АВР)

Активированное время рекальцификации (АВР) – время, необходимое для образования сгустка фибрина в богатой тромбоцитами плазме при добавлении ионов кальция. Отражает состояние тромбоцитарного и плазменного звена гемостаза.

Исследуемый материал: оксолатная или цитратная тромбоцитарная плазма..

Среднее значение – 80-120 секунд. Величина может колебаться в зависимости от используемых реактивов.

В норме рекальцификации плазмы 60-120 с.

Увеличение АВР характерно для снижения свертываемости и определения дефицитом факторов VII, IX, XII, уменьшением числа и функциональной полноценности тромбоцитов. Наблюдается в тех же случаях, что и при увеличении времени свертывания крови.

Укорочение АВР, как и времени свертывания, свидетельствует о склонности к гиперкоагуляции.

Протромбиновое время

Протромбиновое время – время образования тромбинового сгустка при добавлении кальция и тромбиногена. Характеризует активность сывороточных факторов свертывания протромбинового комплекса (факторы II, V, VII, X):

по Квику – 11-15 секунд.

Удлинение протромбинового времени наблюдается при врожденной или приобретенной недостаточности факторов I, II, V, VII, X (редкие заболевания), при тяжелых поражениях печени и недостатке витамина К, у больных, постоянно принимающих противосвертывающие препараты. Лечение антикоагулянтами, если Протромбиновое время увеличивается приблизительно в 2 раза.

Протромбиновый индекс.

Протромбиновый индекс – отношение протромбинового времени донора к протромбиновому времени обследуемого. Нивелирует те различия в результатах протромбинового времени, которое возникает из-за различий активности добавляемого тромбопластина, которые неминуемы в разных партиях.

Нормальная величина – 0,93-1,07 или 80-105%.

Увеличение протромбинового индекса свидетельствует о повышении свертываемости, риске развития тромбозов, нормально для последних месяцев беременности. Повышение этого показателя вызывают пероральные контрацептивы.

Снижение протромбинового индекса отмечается при ДВС-синдроме, острых гепатитах, циррозе печени, механической желтухе, дефиците витамина К, заболеваниях кишечника, а также при приеме аспирина.

Протромбиновое время (протромбиновый индекс)

Исследуемый материал. Цельная кровь цитратная, цитратная плазма.

Примечание. Точное соотношение количества крови и антикоагулянта (9:1) является критическим. Если объем антикоагулянта не соответствует высокому значению гематокрита, протромбиновое время увеличивается.

Условия хранения. Проба стабильна 2 ч при комнатной температуре, 4 ч при + 4⁰ С. Длительное хранение при + 4⁰С вызывает уменьшение протромбинового времени (холодовая активация фактора VII).

Не следует использовать в качестве антикоагулянта раствор оксалата натрия.

Влияющие факторы. Аминосалициловая кислота, анаболические стероиды, антибиотики, антикоагулянты пероральные, ацетилсалициловая кислота в больших дозах, слабительные средства в больших дозах, слабительные средства, этанол, галотан, никотиновая кислота, хинидин, хинин, тиазидовые диуретики увеличивают время. Ацетилсалициловая кислота (в небольших дозах), пероральные контрацептивы; препараты, которые могут взаимодействовать с пероральными антикоагулянтами, ослабляя их действие, барбитураты, кортикостероиды – уменьшают время.

Конечные этапы свертывания крови

Тромбиновое время.

Тромбиновое время – характеризует конечный этап свертывания и превращения фибриногена в фибрин. Оно не зависит от внутренней и внешней системы активации протромбина, но зависит от концентрации фибриногена, наличия аномального фибриногена, активности антитромбина, процессов полимеризации и стабилизации фибрина.

Нормальная величина – 15-18 секунд.

Увеличение тромбинового времени отмечается при ДВС-синдроме, тяжелых поражениях печени, врожденной недостаточности фибриногена, интенсивном распаде фибрина. Этот показатель один из распространенных и информативных при контроле за лечением гепарина и фибринолитиками (препаратами, расщепляющими фибрин и устраняющие тромбы).

Укорочение времени свидетельствует об избытке фибриногена или наличии патологических белков (парапротеинов).

Фибриноген.

Фибриноген (фактор 1) – белок, синтезирующийся в печени и под действием фактора XIII превращающийся в нерастворимый фибрин.

Нормальная концентрация – 2-4 г/л, 5,9-11,7 мкмоль/л.

Увеличение концентрации фибриногена свидетельствует о повышенной свертываемости и риске образования тромбов. Наблюдается в последние месяцы беременности и после родов, хирургических операций, при пневмониях, раке легких, в I фазу острого ДВС-синдрома, при хроническом ДВС-синдроме.

Снижение концентрации отмечается во II и III фазу острого ДВС-синдрома (неблагоприятный прогноз), при тяжелых формах гепатита и цирроза печени.

Исследуемый материал. Цитратная кровь, бестромбоцитарная плазма.

Условия хранения. Проба стабильна в течение нескольких дней при комнатной температуре, несколько месяцев – при -20°C .

Влияющие факторы. Эстрогены, пероральные контрацептивы, гепаринотерапия – завышают содержание, анаболические стероиды, аспарагиназа, стрептокиназа, урокиназа – занижают содержание фибриногена. Поскольку фибриноген является чувствительным острофазным белком, его концентрация повышается в несколько раз при воспалении или некрозе ткани.

Примечание. Общий фибриноген, определяемый с помощью иммунологического метода, может не всегда соответствовать физиологически активному фибриногену.

Фибринолитическая система крови.

Продукты деградации фибрина

Продукты деградации фибрина (ПДФ), растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) – промежуточные продукты превращения и разрушения фибрина.

Для быстрого выявления ПДФ РФМК служат паракоагуляционные тесты:

- А) этаноловый тест – в норме отрицательный,
- Б) протаминсульфатный тест – в норме отрицательный.

Рекомендуется проводить одновременно, так как отрицательный результат одного теста может сочетаться с положительным результатом другого ввиду их различной чувствительности.

Абсолютная концентрация:

ПДФ – 5-10 мкг/л,

РФМК – 0,35-0,47 ед.

Положительные результаты паракоагуляционных тестов или повышение абсолютных концентраций свидетельствует о ДВС-синдроме или массивном тромбозе с активным фибринолизом.

Взятие крови зависит от метода определения.

- А) Проба с протамин сульфатом для обнаружения ПДФ в крови.

Исследуемый материал. Свежая сыворотка крови.

Б) Методы агглютинации

- скрининг тест (Fi-тест, Parke, Davis and Co)
- противоточный электрофорез
- радиальная иммунодиффузия

- ингибирование гемагглютинации
- РИА

Исследуемый материал. Цельная кровь. Собирают в пробирку, содержащую тромбин и аминокaproновую кислоту. Дать свернуться при 37⁰С.

Условия хранения. Проба стабильна 8 ч при комнатной температуре (или заморозить при -20⁰С).

Влияющие факторы. Стрептокиназа, урокиназа, физическая нагрузка, стресс – завышают результаты.

Повышенные уровни ревматоидного фактора, травматическая венопункция, длительное пережатие вены, энергичное встряхивание пробирки могут приводить к ложноположительным результатам.

Эуглобулиновый лизис

(Время лизиса эуглобулиновых сгустков).

Эуглобулиновый лизис - время растворения фибринового сгустка.

Эуглобулиновая фракция плазмы содержит около 25% фибриногена, пламиноген, плазмин, протромбин и другие факторы свертывающей системы крови. Эта фракция лишена антиплазминов. Полученный осадок эуглобулинов растворяется. Фибриноген превращается в фибрин. Время лизиса эуглобулиновой фракции плазмы зависит от количества фибриногена, плазмينا и активаторов плазмينا.

Исследуемый материал. Цитратная кровь, бестромбоцитарная плазма.

Условия хранения. Центрифугировать не позднее, чем через 30 мин при 4⁰С. Проба стабильна в течение 2 ч после центрифугирования.

Лизис может быть ускорен у здоровых лиц после физической нагрузки. Длительное пережатие вены может повышать фибринолитическую активность. Аспарагиназа, клофибрат, декстран, стрептокиназа, урокиназа – ускоряют лизис.

В норме сгусток лизируется в течение 180-300мин.

Укорочение времени растворения сгустка указывает на повышение фибринолитической активности: ДВС - синдром, цирроз печени, шок, хирургические вмешательства на ткани легких, акушерская практика.

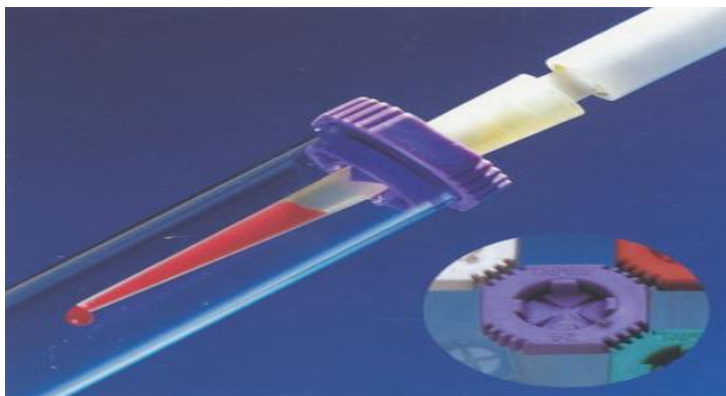
Удлинение - на снижение: геморрагический васкулит, тромбоз, гипопластические процессы кроветворения.

ПРИБОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

В настоящее время в лабораторной практике широко используются автоматические анализаторы системы гемостаза. Использование приборов, регистрирующие процессы гемокоагуляции, позволяет значительно уменьшить ошибки, возникающие при других методах исследования.

Системы взятия венозной и капиллярной крови

Aquisel-TAPVAL



- пластиковые пробирки с наполнителем (цитрат натрия)
- герметичная крышка-клапан
- объемы крови: 0,5 мл; 1 мл; 2 мл; 4 мл.

Последние технологии агрегации тромбоцитов

AggRAM



Последние технологии агрегации тромбоцитов

- 4 или 8 каналов
- Сканер Бар-кода
- Неограниченное количество тестов

- ☞ **Контроль качества – Levy Jennings**
- ☞ **Система обработки данных**
- ☞ **Наложение до 21 кривой в одном окне**
- ☞ **Настройка отчетов**
- ☞ **Возможность использования половины объема реагентов**

Исследование агрегации тромбоцитов Helena AggRAM



Рабочий модуль агрегометр + коагулометр



Однокональный коагулометр Amelung KC 1 Delta



- Для небольших лабораторий
- Простой и надежный в эксплуатации
- Открытая система
- Клоттинговые тесты: ПВ, АЧТВ, фибриноген, ТВ и др.
- Термостатирование:
- 4 позиции для проб
- 1 позиция для реагента
- Автоматический расчет МНО
- Печать результатов на внешнем принтере

Четырехканальный коагулометр-полуавтомат Amelung KC 4 Delta



- Простой в обращении
- Надежный в эксплуатации
- Для средних лабораторий
- Открытая система
- Клоттинговые тесты:
- ПВ (результаты в сек, % по Квику, МНО)
- АЧТВ (сек)
- Фибриноген (метод Клаусса, г/л)
- ТВ (сек)
- Волчаночные антикоагулянты (сек)
- Протеин С , Протеин S (сек, % активности)
- Факторы свертывания II, V, VII, X (сек, % активности)
- Факторы свертывания VIII, IX, XI, XII (сек, % активности)
- Термостатирование: 8 позиций для проб 5 позиций для реагента
- Возможность выбора анализа: по тестам/ по пациентам/ срочные анализы
- Расчеты результатов по калибровочной зависимости: % по Квику, фибриноген и др.
- Хранение калибровок в памяти прибора
- Печать результатов на внешнем принтере

2-х и 4-х каналные коагулометры-полуавтоматы OPTION 2/4 Plus



- Для небольших и средних лабораторий
- Простые и надежные в эксплуатации
- Открытая система
- Клоттинговые тесты: ПВ, АЧТВ, ТВ, фибриноген, факторы свертывания

Двухканальный коагулометр-полуавтомат OPTION 2 Plus

- Фотооптическая детекция сгустка
- Автозапуск измерений
- Программирование параметров теста
- Хранение калибровок в памяти прибора
- Единичные измерения и дубликаты
- Термостатирование: 4 позиции для проб, 2 позиции для реагентов
- Результаты измерений в сек; %; г/л; МНО и т.д.
- Аудио и визуальная сигнализация
- Печать результатов на внешнем принтере

**Двухканальный коагулометр-полуавтомат
Humaclot Duo**



- **Клоттинговые тесты: ПВ, АЧТВ, фибриноген, ТВ, дефицит факторов свертывания и др.**
- **Оптическое детектирование и автоматическое перемешивание**
- **Два измерительных канала**
- **Встроенный термостат на 18 позиций для кювет и 2 позиции для флаконов с реагентами**
- **Экономичный расход реагентов**
- **Программирование калибровочных значений**
- **Энергонезависимая память на 10 тестов**
- **Автоматический расчет и вывод результатов на дисплей и встроенный термопринтер**

Селективный коагулометр-автомат Amelung

AMAX Destiny Plus

возможно одновременное выполнение механических, оптических и хромогенных режимов

- Клоттинговые (механический и оптический способы детекции): ПВ, АЧТВ, ТВ, фибриноген, факторы II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII и др.
- Хромогенные (405 нм): Антитромбин III, протеин С, протеин S, гепарин, плазминоген и др.
- Иммунотурбидиметрия: D-димер (агглютинационные тесты)
- Калибровка: до 8 калибраторов в дубликатах, шесть видов калибровочных зависимостей, графическое представление результатов калибровки
- Пробы: 50 позиций для проб, использование первичных пробирок всех размеров со штрих-кодами и без штрих-кодов, возможность срочных исследований
- Реагенты: от 26 до 31 позиции для реагентов с охлаждением (12.5 - 17.50С), 3 позиции с перемешиванием реагента, контроль срока годности и количества реагента



- Для средних и больших лабораторий поликлиник и больниц, диагностических и научных центров и т.д.
- Высокая производительность (100-180 тестов в час при рутинных исследованиях)

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз

1. Время кровотечения по Дьюку - не дольше 5 мин (2-4 мин).
2. Количество тромбоцитов в крови $200-400 \cdot 10^9$ /л.
3. Размер тромбоцитов: микроформы (до 2мкм)- 2-15%, мезоформы (2-4мкм)-82-89%, макроформы (более 4мкм)-1-11%, мегалоформы (более 5,5 мкм) – до 1% от общегочислатромбоцитов.
4. Ретракция кровяного сгустка – 48-64 %.
5. Адгезия тромбоцитов к стеклу -20-45% (индекс адгезивности).
6. Агрегация тромбоцитов (спонтанная) – 0-20%.

Плазменно-коагуляционный гемостаз

Показатели активности 1 и 2 фаз свертывания:

1. Время свертывания венозной крови (по Ли-Уайту) – 5-10 мин.
2. Время свертывания капиллярной крови (по Сухареву) – 3-5 мин.
3. Время рекальцификации (АВЧ- активированное время рекальцификации) - от 60 до 120 сек.
4. Протромбиновое время (по Квику) – 11-15 сек.
5. Протромбиновый индекс (ПАК-протромбиноваы активность крови)- 80-105%.

Конечный этап свертывания крови

1. Тромбиновое время- 15-20 сек.
2. Фибриноген – 2-4 г/л.

Фибринолитическая система крови

1. Продукты деградации фибрина (ПДФ) – 5-10 мкг/л.
2. Эуглобулиновый лизис – 3-5 часов.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ ПО ТЕМЕ «ГЕМОСТАЗ»

Вопросы для диктанта

1. Гемостаз –
2. Два механизма гемостаза –
3. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз -, факторы (тромбоциты, сосудистая стенка).
4. Назвать вещества поддерживающие спазм сосудов (серотонин, адреналин, норадреналин)
5. Адгезия –
6. Агрегация –
7. Ретракция –
8. Гемокоагуляция –
9. I фаза
10. II фаза
11. III фаза
12. Механизмы – гемокоагуляции
13. XII фактор
14. III фактор
15. Ретракция –
15. Как осуществляется связь внутреннего и внешнего механизма свертывания крови.
16. Какие факторы синтезируются при участии витамина К (II, VII, IX, X)
17. Нормальные показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.
18. Нормальные показатели активности 1 и 2 фаз свертывания крови.
19. Нормальные показатели конечного этапа свертывания крови.
20. Нормальные показатели фибринолитической системы крови.

Варианты письменных вопросов.

Вариант 1.

1. Гемостаз – определение.
2. I стадия вторичного гемостаза по внутреннему механизму.
3. Физиологические антикоагулянты – определение, название, функции.

Вариант 2.

1. Назовите факторы, участвующие во вторичном гемостазе.
2. I стадия вторичного гемостаза по внешнему механизму.
3. Система фибринолиза – определение. Факторы системы фибринолиза.

Вариант 3.

1. Назовите стадии вторичного гемостаза.
2. Каллекреин–кининовая система – определение, биологическое значение.
3. Назовите факторы противосвертывающей системы.

Вариант 4.

1. Назовите стадии первичного гемостаза, дайте краткую характеристику каждой стадии.
2. XIII фактор – название, значение, XII фактор – название значение
3. Гепарин – к какой группе противосвертывающей системы относят, его значение.

Вариант 5.

1. Как между собой связаны внешний и внутренний механизмы свертывания, их скорость и условия возникновения.
2. Опишите III стадию вторичного гемостаза
3. Укажите К – зависимые плазменные факторы свертывания, где они синтезируются.

ВАРИАНТ 1 - 1

1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.
2. Противосвертывающая система крови.
3. Механизм развития ДВС-синдрома.
4. Формы ДВС-синдрома.

ВАРИАНТ 2 - 1

1. Внутренний механизм свертывания.
2. Ретракция кровяного сгустка.
3. Отличие ДВС-синдрома от локального функционального свертывания крови.
4. Определение ДВС-синдрома.

ВАРИАНТ 3 - 1

1. Внешний механизм свертывания
2. Факторы свертывания крови.
3. Стадии ДВС-синдрома.
4. Для первоначального выявления ДВС-синдрома проводят?

ВАРИАНТ 4 - 1

1. Три фазы гемокоагуляции.
2. Фибринолиз.
3. Этиология ДВС-синдрома.
4. Лабораторная характеристика ДВС-синдрома.

ТЕСТОВЫЙ КОНТРОЛЬ по теме «Гемостаз»

1. Как обозначается тромбоцитарный тромбопластин:
 - А. P_{10}
 - Б. P_4
 - С. P_3
2. Что такое фибринолиз:
 - А. растворение сгустка
 - Б. уплотнение сгустка
 - С. образование сгустка
3. Какой путь свертывания крови включается при повреждении ткани:
 - А. внутренний
 - Б. внешний
 - С. нет правильного ответа
4. На какой фазе вторичного гемостаза происходит образование тромбина:
 - А. 1 фаза
 - Б. 3 фаза
 - С. 2 фаза
5. Какой ион присутствует во всех реакциях свертывания крови:
 - А. Na^+
 - Б. Ca^+
 - С. K^+
6. В каком состоянии в организме находятся плазменные факторы:
 - А. активном
 - Б. неактивном
 - С. незнаю
7. Какой витамин необходим для синтеза факторов II, VII, IX, X:
 - А. витамин А
 - Б. витамин С
 - С. витамин К
8. Какие клетки крови участвуют в свертывании крови:
 - А. моноциты
 - Б. лимфоциты
 - С. тромбоциты
9. В системе гемостаза не участвуют:
 - А. клетки крови
 - Б. плазменные факторы
 - С. жирные кислоты
10. Плазменный фактор Ф XIII это:
 - А. фактор фибринстабилизирующий
 - Б. фактор Хагемана
 - С. фибриноген

- 11. Ретракция кровяного сгустка происходит за счет**
А. тромбостенина.
Б. тромбопластина.
С. тромбина.
- 12. При повреждении сосудистой стенки включается путь свертывания крови:**
А. внутренний
Б. внутренний и внешний
С. внешний.
- 13. Физиологическими антикоагулянтами в противосвертывающей системе не являются :**
А. плазмин
Б. антитела
С. гепарин.
- 14. Во вторичном гемостазе в третьей фазе образуется:**
А. тромбокиназа
Б. тромбин
С. Фибрин
- 15. Плазменные факторы:**
А. выделяются тромбоцитами
Б. ферменты, которые синтезируются в печени
С. ферменты выделяемые эритроцитами.
- 16. Коагулопатии:**
А. нарушение процесса гемостаза
Б. нарушение ретракции сгустка
С. нарушение фибринолиза
- 17. Первая фаза свертывания крови:**
А. образование фибрина
Б. образование тромбокиназы
С. образование тромбина
- 18. Какими веществами поддерживается спазм сосудов:**
А. инсулином, тиреозином
Б. гормонами щитовидной железы
С. серотонином, адреналином и норадреналином
- 19. Тромбоциты контактируя с субэндотелием прилипают к стенкам сосудов - это:**
А. адгезия
Б. агрегация
С. фибринолиз
- 20. Агрегация - это:**
А. склеивание тромбоцитов между собой
Б. приклеивание тромбоцитов к стенке сосудов
С. растворение сгустка

- 21. Ретракция это:**
А. размягчение тромба в поврежденных сосудах
Б. образование рыхлой тромбоцитарной пробки
С. уплотнение и закрепление тромба в поврежденных сосудах
- 23. Принимает участие в переходе растворимого фибрина в нерастворимый:**
А. фибриназа
Б. каталаза
С. тромбокиназа
- 24. Какие вещества относятся к противосвертывающей системе:**
А. протромбин
Б. фибрин
С. гепарин
- 25. Второй этап коагуляционного гемостаза это:**
А. образование тромбина
Б. образование тромбокиназы
С. образование фибрина
- 26. Основной фермент фибринолиза:**
А. плазмин
Б. тромбин
С. фибрин
- 27. Растворение сгустка это:**
А. рекальцификация
Б. гемолиз
С. фибринолиз
- 28. Внутренний механизм свертывания крови протекает:**
А. 1-2 сек
Б. 5-10 сек
С. 5-10 мин
- 29. Внешний механизм свертывания крови протекает:**
А. 10 сек
Б. 1 мин
С. 20 сек
- 30. 2 стадия коагуляционного гемостаза:**
А. образование тромбина
Б. образование фибрина
С. образование тромбокиназы
- 31. 3 стадия коагуляционного гемостаза:**
А. образование тромбина
Б. образование фибрина
С. образование тромбокиназы
- 32. 1 стадия коагуляционного гемостаза:**
А. образование тромбина
Б. образование фибрина
С. образование тромбокиназы

33. Основной фермент фибринолиза:

А. фибринолизин

Б. кинин

С. серотонин

34. Какая фаза свертывания крови может проходить по внутреннему или внешнему механизму:

А. образование активной тромбокиназы

Б. образование тромбина

С. образование фибрина.

35. Фибрин стабилизирующий фактор:

А. Ф XI

Б. Ф X

С. Ф XIII

36. Различные заболевания общим признаком которых служит склонность к кровоточивости называют:

А. гемофилии

Б. ДВС – синдром.

С. геморрагические диатезы.

Литература

1. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980
2. Любимова, Н. В. Теория и практика лабораторных биохимических исследований [Текст]: учебник для медицинских колледжей по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика» / Н. А. Любимова. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2019. — 416 с.
3. Ершов, Ю. А. Биохимия [Электронный ресурс]: учебник и практикум для среднего профессионального образования / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева ; под редакцией С. И. Щукина. — 2-е изд., испр. и доп. — Электрон. текстовые дан. - Москва : Юрайт, 2019. — 323 с. - Режим доступа : <http://www.biblio-online.ru>

ОТВЕТЫ К ТЕСТАМ

Номер вопроса	ответ	Номер вопроса	ответ	Номер вопроса	ответ
1	С	15	Б	29	С
2	А	16	А	30	А
3	Б	17	Б	31	Б
4	С	18	С	32	С
5	Б	19	А	33	А
6	Б	20	Б	34	А
7	С	21	А	35	С
8	С	22	С	36	С
9	С	23	А		
10	Б	24	С		
11	А	25	А		
12	А	26	А		
13	С	27	С		
14	С	28	Б		