

КАК ПОСТРОИТЬ ПРОГРАММУ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНОГО С НАРУШЕНИЯМИ В СВЕРТЫВАНИИ КРОВИ

Т.В. ВАВИЛОВА, д.м.н., профессор,

Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России

Отклонения в функционировании системы гемостаза приводят к клиническим проявлениям в виде геморрагических и/или тромботических эпизодов, а также их сочетания. Эти ситуации широко распространены в клинической практике, и с ними сталкивается врач любой специальности. Построение программы лабораторного обследования на начальном этапе и в динамике наблюдения за пациентом зависит от клинической ситуации и рабочей гипотезы, от вовлечения тех или иных механизмов системы гемостаза. Скрининговые тесты являются основой начального алгоритма обследования больного. На основании их результатов, клинической картины и анамнестических данных подключаются дополнительные тесты. Для эффективного использования современных лабораторных возможностей диагностики необходимо понимание существа выполняемых исследований, их особенностей и зоны ответственности каждого. На основании результатов исследований могут приниматься важнейшие клинические решения — от постановки диагноза до определения рисков развития повторных тромботических или геморрагических событий с построением соответствующей программы вторичной профилактики и выбора характера терапии, изменения стиля жизни, планирования беременности и методов контрацепции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коагулограмма, тромбозы, кровотечения, генетическое тестирование, тромбофилия

HOW TO CREATE A LABORATORY EXAMINATION PROGRAM FOR A PATIENT WITH BLOOD-CLOTTING DISORDERS

T.V. VAVILOVA, MD, Prof.,

Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of Russia

Impairments in haemostatic system function may result in the clinical manifestations in the form of haemorrhagic and/or thrombotic episodes and their combinations. Such cases are widespread in clinical practice, and a physician across specialties may face them. The creation of a laboratory examination program at the initial stage and in the follow-up of a patient depends on the clinical situation and working hypothesis, on the involvement of various mechanisms of the haemostasis system. Screening tests are the basis of the initial examination algorithms for the patient. Additional tests are added based on the initial examination results, clinical picture and medical history data. It is necessary to understand the essence of the performed examinations, their characteristics and the areas of responsibility of each in order to effectively use modern laboratory diagnostic capabilities. The most important clinical decisions can be made on the basis of the lab examination results — from establishing diagnosis to identifying the risks of recurrent thrombotic or haemorrhagic events and creating an appropriate secondary prevention program and choice of therapies, lifestyle changes, pregnancy planning and contraceptive methods.

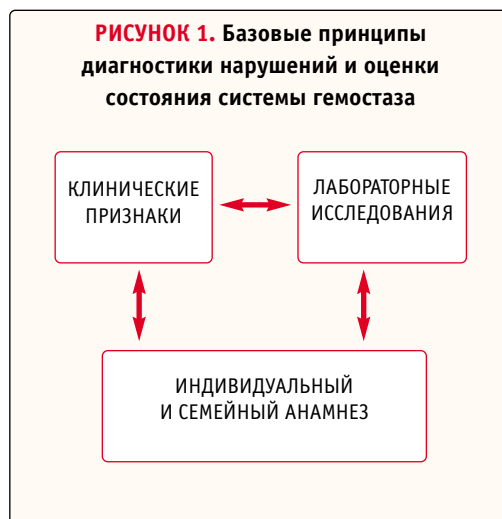
KEYWORDS: coagulation profile, thrombosis, haemorrhage, genetic tests, thrombophilia

Современная гемостазиология использует весь спектр возможностей, которые предоставляет прогресс в области лабораторных технологий, сохраняя в то же время и «старые» методы. Различные технологические подходы с разной специфичностью и чувствительностью оценивают одни и те же компоненты гемостаза, а набор методов зависит от возможностей лаборатории. Наиболее распространенными и доступными являются клоттинговые (*clot* — сгусток, свертывание) или хронометрические методы. В основе их лежит наблюдение за временем образования сгустка *in vitro*. Они могут быть выполнены с помощью современных коагулометров (механический метод детекции, турбидиметрия, нефелометрия). Ручные методы на водяной бане не рекомендуются из-за плохой воспроизводимости и точности. Клоттинговые методы включают в себя скрининг плазменных компонентов, в том числе противосвертывающей системы, а также определение активности отдельных факторов свертывания, выявление аРС-резистентности, коррекционные и подтверждающие тесты обнаружения волчаночного антикоагулянта. При наличии соответствующих наборов реагентов могут быть выполнены и более тонкие исследования для оценки действия нефракционированного и низкомолекулярного гепарина — определение антиХа-активности плазмы. А контроль терапии антивитамином К-препаратами вообще возможен только с помощью клоттингового метода.

Кроме хронометрических методов, используются методы хромогенные, иммуноферментный анализ, иммунотурбидиметрия, молекулярно-генетические, проточная цитометрия в зависимости от оснащения лаборатории, клинических задач и экономических возможностей. Качество выполнения коагулологических тестов строго зависит от проведения преаналитического этапа — получение венозной

крови максимально щадящим методом, сохранение соотношения «кровь/цитрат натрия» в пробирке, максимально быстрая доставка в лабораторию и время начала работы с пробамми (для исследования функции тромбоцитов — в течение часа, для исследования плазменного гемостаза — не более 4 часов). Капиллярная кровь может быть использована только при условии работы с портативным коагулометром.

РИСУНОК 1. Базовые принципы диагностики нарушений и оценки состояния системы гемостаза



Все многообразие лабораторных исследований системы гемостаза может быть разделено на оценочные (скрининговые) и дополнительные тесты. Такое деление целесообразно и с организационной точки зрения, позволяя правильно распределить материальные и кадровые ресурсы и сделать лабораторную диагностику нарушений гемостаза наиболее информативной и экономически целесообразной (табл. 1) [1].

Диагностика нарушений свертывания крови неизменно базируется на трех составляющих: клинические проявления, индивидуальный и семейный анамнез, результаты лабораторных исследований (рис. 1). Ни одна из этих состав-

ТАБЛИЦА 1. Лабораторные тесты для оценки гемостаза (рекомендации Всероссийской ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А.В. Шмигды — Б.А. Кудряшова и Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, 2007)

<p><i>Оценочные тесты 1-го уровня</i> — выполняются в лабораториях первичного звена: количество тромбоцитов, время кровотечения, АЧТВ, протромбиновое время (МНО), фибриноген по Клаусу</p>
<p><i>Оценочные тесты 2-го уровня</i> — выполняются в лабораториях диагностических центров и стационаров: агрегация тромбоцитов, ТВ, D-димер (или РФМК), лизис эритроцитов</p>
<p><i>Дополнительные тесты</i> — выполняются в специализированных лабораториях: при кровоточивости — активность фактора Виллебранда и плазменных факторов свертывания (VIII, IX, XI, VII, X, V, II) при склонности к тромбозам — антитромбин, протеины С и S, аРС-резистентность, гомоцистеин, волчаночный антикоагулянт, антифосфолипидные антитела, генетическое тестирование (FV Лейден G1691A, мутация гена протромбина G20210A)</p>
<p><i>Контроль анти тромботической терапии</i> — выполняется в лабораториях всех уровней: терапия нефракционированным гепарином — АЧТВ, терапия антивитамином К-препаратами — МНО</p>

ляющих не имеет приоритета и не должна рассматриваться самостоятельно.

В диагностически неясных случаях только тесный контакт клинициста и врача клинической лабораторной диагностики может быть основой выбора правильного пути и принести пользу больному. Целесообразно выстроить алгоритм лабораторной диагностики по приведенной схеме (рис. 2) [2].

На основании клинической картины, анамнестических данных или семейной истории можно выделить два ключевых клинических синдрома — кровотечение (или кровоточивость) и тромбоз, каждый из которых требует своей программы лабораторного обследования.

В целом геморрагические состояния встречаются реже, чем тромбозы, и могут быть обусловлены как врожденными, так и приобретенными причинами. Наличие активного кровотечения заставляет в первую очередь исключить травматическую (хирургическую) его причину. Однако, даже если имеется такого рода причина, это не означает отсутствия патологии свер-

тывания крови. В оценке кровотечения необходимо определить его характер (зона микроциркуляции, артериальное, венозное), длительность существования, по возможности понять причину — основное заболевание, например, опухоль, аневризма и другие и исключить влияние лекарственных препаратов, таких как НПВС, аспирин, антикоагулянты.

Обязателен сбор сведений о наличии эпизодов кровоточивости в анамнезе у больного — носовые кровотечения в детстве, характер и длительность мenses, кровоточивость при порезах и травмах, образование гематом, гемартрозов, эпизоды петехиальных высыпаний, а также указания на такого рода нарушения у родственников первой линии.

Следующий шаг в диагностике — лабораторные исследования. Комплекс первичных исследований должен включать оценку первичного (тромбоцитарного) звена и коагуляционного звена гемостаза [2].

Для недостаточности первичного (сосудисто-тромбоцитарного) гемостаза характерны кро-

**РИСУНОК 2. Последовательность действий
для клиничко-лабораторной диагностики патологии гемостаза**



вотечения в зоне микроциркуляции — носовые, десневые, маточные, наличие петехиальных высыпаний. При травмах, в частности при экстракции зуба, кровотечение возникает сразу, что полностью соответствует механизмам формирования тромбоцитарной пробки и белого тромба.

В характеристике сосудисто-тромбоцитарного гемостаза можно выделить скрининговые тесты, доступные любой лаборатории.

1. Количество тромбоцитов, которое доступно при проведении клинического анализа крови. Одновременно с подсчетом количества тромбоцитов целесообразна микроскопия мазка крови, что позволит морфологически оценить их состояние (гигантские, скопления и т. д.). Кроме этого, с анализатора может быть получена

точная информация о среднем объеме тромбоцитов (MPV — mean platelet volume), имеющая значение в диагностике тромбоцитопатий. Нормальное количество тромбоцитов в периферической крови колеблется от $150 \times 10^9/\text{л}$ до $400 \times 10^9/\text{л}$ [3]. В клинической практике тромбоцитопенией считают лишь ту ситуацию, когда количество тромбоцитов снижается до $100 \times 10^9/\text{л}$ и ниже. Спонтанные геморрагические проявления отмечаются при уменьшении количества тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$.

Тромбоцитопения является наиболее частой причиной геморрагий, при этом редко бывает первичной. Среди тромбоцитопений как ведущей причины геморрагических состояний с нарушением тромбоцитарных механизмов можно выделить тромбоцитопению с сохраненной

длительностью жизни кровяных пластинок (7–12 дней), но с нарушенной их продукцией, с сокращенной продолжительностью жизни вследствие разрушения или потребления и тромбоцитопении вследствие перераспределения (депонирования). Тромбоцитопения может сопровождать и повышенную активность системы гемостаза (вплоть до тромбозов) и являться следствием потребления или иммунных реакций — при кровопотере, беременности, использовании гепарина (гепарин-индуцированная тромбоцитопения) и др.

2. Время (длительность) кровотечения. Это исследование, несмотря на свою простоту, нестандартизованность и сомнительные информативные характеристики, сохраняется в арсенале лабораторий для определенных клинических ситуаций (только кровоточивость). Длительность кровотечения позволяет уточнить состояние сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза *in vivo*, моделируя процесс с полным набором действующих компонентов. Методический подход был впервые предложен Milian M.G. в 1901 г. и модифицирован Duke в 1910 г. Все его варианты предполагают нанесение микро-разреза кожных покровов с использованием скарификатора или другого стандартного режущего устройства (с ограничением глубины раны). В настоящее время используются два основных метода определения длительности кровотечения — метод Duke (прокол мочки уха) и метод Ivy (нанесение микроразреза на переднюю поверхность предплечья).

Дополнительные тесты для оценки функционального состояния тромбоцитов можно разделить на 2 группы: лабораторные тесты, связанные с изучением индуцированной агрегационной способности, и изучение тромбоцитов без дополнительной активации с максимальным приближением к состоянию *in vivo*, в том числе спонтанной агрегации тромбоцитов.

Условием объективной оценки является сохранение тромбоцитов в неактивном состоянии до момента исследования, что связано с соблюдением правил преаналитического этапа.

Индукцированная агрегация может исследоваться как в цельной крови, так и в тромбоцитарной плазме. Последний метод является наиболее распространенным. Основными индукторами являются АДФ, коллаген, арахидоновая кислота, ристоцетин и адреналин. Чаще используется фотометрический метод, предложенный G.V.R. Born в 1962 г. Он основан на измерении светопропускающей способности тромбоцитарной плазмы, которая меняется во времени при иницировании процессов активации и агрегации тромбоцитов различными индукторами. На основе фотооптической агрегации проводится оценка активности фактора Виллебранда и диагностика болезни Виллебранда. Однако метод не дает воспроизводимой и достоверной информации о повышенной активности тромбоцитов.

Из современных разработок стоит упомянуть метод PFA-100® — platelet function analyser, в котором осуществляется моделирование первичного гемостаза, а метод называют «длительностью кровотечения *in vitro*».

Метод проточной цитометрии дает возможность оценки качественного и количественного состава мембранных гликопротеидов. Образцы с тромбоцитами нагружают флуоресцентными моноклональными антителами к соответствующему гликопротеину и/или красителем на внутриклеточный мессенджер (например, кальций). Далее, в проточной камере регистрируется флуоресценция и светорассеяние от каждой клетки. Компьютерная обработка определяет число и тип экспрессированных рецепторов, секрецию гранул, концентрацию внутриклеточных мессенджеров. Те же самые параметры могут быть измерены *in vitro*

после активации тромбоцитов агонистами — индуцированная проточная тромбоцитометрия [4]. С помощью данного метода возможно анализировать субпопуляции тромбоцитов в пробе малого объема.

Геморрагические проявления, связанные с нарушениями коагуляционного (плазменного) гемостаза, объясняются, как правило, снижением активности плазменных факторов свертывания. Врожденные дефекты, многие из которых также встречаются очень редко, определяются дефицитом одного (очень редко более) фактора, функциональная недостаточность которого может быть связана как со снижением его продукции и концентрации в плазме, так и изменением только активности. В первом случае принято рассматривать тип I заболевания, а во втором — тип II. Приобретенные расстройства касаются сразу нескольких факторов свертывания. К приобретенным дефектам можно отнести коагулопатию потребления при синдроме ДВС, гиперфибринолизе, нарушении синтеза при заболеваниях печени, наличии антикоагулянтов и др.

Скрининговые или оценочные тесты для плазменного гемостаза формируются в соответствии с классическим представлением о механизмах активации свертывания (до 2000 г.), являются клоттинговыми и основаны на запуске гемостатических реакций *in vitro* по внутреннему или внешнему пути активации с помощью специальных реагентов.

1. Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ или АПТВ) — тест, оценивающий активность факторов внутреннего пути свертывания. Для запуска реакции в цитратную бестромбоцитную плазму добавляются парциальные тромбопластины — фосфолипидная смесь, действующая подобно тромбоцитарному фактору 3 и укорачивающая время свертывания плазмы в присутствии ионов кальция. В настоящее время имеется более

300 лабораторных методов оценки АЧТВ. Все коммерческие реагенты АЧТВ варьируют по своей чувствительности по отношению к активности факторов. Причины этого не вполне ясны. Важную роль играют источники получения фосфолипидов и активирующие агенты.

АЧТВ в той или иной мере отражает активность всех факторов, кроме фактора VII. Референсное значение АЧТВ 20—45 сек; зависит от вида и активности реагентов, от типа оборудования. Укорочение АЧТВ имеет неуточненное клиническое значение, часто бывает связано с погрешностями взятия и обработки крови. Тест отражает только начальный этап генерации тромбина, поэтому АЧТВ активно используется лишь для выявления недостаточности коагуляционных механизмов и определения причин кровотоочивости.

Причины удлинения АЧТВ:

1. Врожденное или приобретенное снижение количества или активности факторов XII, XI, IX, VIII, реже — X, V, II, фактора Виллебранда. Чувствительность к фибриногену (фактор I) ограничена.
2. Наличие в пробе гепарина (введенного пациенту или примесь из катетера при получении пробы крови) или прямых ингибиторов тромбина (дабигатран), но не низкомолекулярных гепаринов или прямых ингибиторов фактора X.
3. Наличие в пробе продуктов деградации фибрина/фибриногена (синдром ДВС, гиперфибринолиз), патологических ингибиторов плазменных факторов или антикоагулянтов волчаночного типа.
4. При дисфибриногемии.

Умеренное удлинение АЧТВ может наблюдаться во время приема варфарина за счет снижения активности фактора IX.

АЧТВ используется для предварительной, скрининговой, оценки состояния плазменного гемостаза (внутренний путь активации) при

различных заболеваниях, в предоперационном периоде и в контроле терапии нефракционированным гепарином. В последнем случае рассчитывается кратность удлинения АЧТВ по сравнению с пулированной донорской плазмой, нормальной плазмой или референсным значением, представленным производителем реагентов. Кратность такого удлинения не всегда сопоставима на различных реагентах и оборудовании: например, при антиХа-активности 0,3 МЕ/мл АЧТВ колеблется от 48 до 108 сек, а кратность удлинения АЧТВ в терапевтическом интервале использования гепарина 0,3–0,7 МЕ/мл — от 1,6 до 6,2 при целевом значении 1,5–2,5. Стандартизации метода, которая была проведена международным сообществом для протромбинового времени, для АЧТВ пока не существует.

2. Протромбиновый тест, протромбиновое время (ПВ). Результаты исследования, выраженные в секундах (время), % (процент протромбина по Квику) или в виде международного нормализованного отношения (МНО), могут быть полезны в зависимости от вероятных причин кровотечения. Если речь идет о заболеваниях печени, недостаточности факторов свертывания, лучше оценивать результат в % по Квику. В случае антикоагулянтной терапии варфарином — в виде МНО. В некоторых международных диагностических алгоритмах предлагается ориентироваться на секунды (например, диагностическая шкала Общества по тромбозу и гемостазу для диагностики ДВС) [5].

Расчет протромбина по Квику проводится классическим образом через построение калибровочной кривой и отражает активность факторов свертывания крови (оригинальная методика Quick, 1964). Расчет МНО производится на основании одновременного измерения протромбинового времени на плазме обследуемого больного и нормальной донорской

плазме. В расчетах используется характеристика примененного реагента в виде международного индекса чувствительности (МИЧ):

$$\text{МНО} = \left(\frac{\text{ПВ исследуемой плазмы}}{\text{ПВ нормальной плазмы}} \right)^{\text{МИЧ}}$$

Протромбиновый индекс считается устаревшим показателем и в настоящее время для использования в лабораториях не рекомендуется.

Удлинение протромбинового времени (снижение % по Квику, увеличение МНО) происходит при врожденном (редко) или приобретенном снижении активности или дефиците факторов VII, X, V, II в следующих клинических ситуациях:

1. Заболевания печени.
2. Коагулопатия потребления (синдром ДВС).
3. Дефицит витамина К (дисбактериоз, механическая желтуха, синдром мальабсорбции).
4. Прием антагонистов витамина К или прямых ингибиторов фактора Ха (ривароксабан, апиксабан). В последнем случае степень удлинения ПВ не зависит от дозы и не используется для ее подбора.

Удлинение ПВ возможно также при снижении содержания фибриногена ниже 1,5–1,0 г/л. К наличию гепарина в пробе ПВ менее чувствительно, чем АЧТВ. Значительное возрастание ПВ (увеличение значения МНО) связано с риском кровотечений.

Уменьшение протромбинового времени (снижение значения МНО) или возрастание активности протромбина по Квику не имеют клинического значения, хотя могут отражать гиперактивность факторов (или нарушения процедуры взятия крови). В связи с этим референтное значение может быть принято за величину > 70%. Референтные значения для МНО указывать некорректно, так как этот показатель должен приниматься во внимание только у больных, принимающих антивитамины К-препараты (варфарин); терапевтический интервал МНО выбирается в зависимости от показа-

ний к их назначению. У лиц, не принимающих варфарин, МНО составляет 1,0 (0,8—1,2).

ПВ в виде % по Квику используется как скрининговый тест в оценке плазменного гемостаза (внешний путь активации) в комплексе с АЧТВ и особенно полезен для выявления печеночных нарушений. МНО в скрининговой оценке не значимо, так как при значениях около 1,0 к незначительным колебаниям активности факторов нечувствительно. Для контроля терапии антивитамином К-препаратами и подбора дозы, наоборот, должно использоваться только МНО, которое является стандартизованным расчетным показателем и нивелирует разницу в используемом оборудовании и реагентах, делая сопоставимыми результаты, полученные в разных лабораториях.

3. Уровень фибриногена, который широко исследуется в лабораториях, имеет важное диагностическое значение — как показатель белково-синтетической функции печени, белок острой фазы воспаления, прогностический маркер при сердечно-сосудистой патологии.

4. Тромбиновое время оценивает конечный этап свертывания, то есть процесс формирования фибрина, и является довольно стабильным тестом. В программе скрининга имеет малое значение. Он может принести пользу в ограниченном количестве случаев дисфибриногенемии, гипофибриногенемии, гепаринизации, при наличии продуктов деградации фибрина/фибриногена, которые задерживают процесс полимеризации, а также для выявления действия новых антикоагулянтов — дабигатрана.

5. D-димер в большей степени целесообразно рассматривать в программе диагностики тромбозов и выявления предтромботических состояний (см. ниже), но может быть использован в оценке геморрагической ситуации, так как выступает как показатель тромбинемии при развитии тромбгеморрагических ослож-

нений. Включение данного исследования в контексте кровотечений особенно важно в динамике острой ситуации, в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в хирургической практике. В то же время для исключения ложноположительных результатов в диагностике тромбозов необходимо с осторожностью и взвешенно относиться к результатам данного измерения.

Интегральная оценка состояния свертывания крови, особенно в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в операционной, в ожоговых отделениях, в родильных домах, в отделениях трансплантации, может и должна проводиться с помощью глобальных методик, которые оценивают совокупно во взаимодействии все компоненты системы гемостаза одновременно с целевым измерением конечного результата гемостатических реакций. Одним из наиболее распространенных и валидированных методов является тромбоэластография/тромбоэластометрия.

Таким образом, использование структурированного подхода позволяет уже на начальном этапе выявить основную (или наиболее вероятную) причину кровотечения и сузить зону поиска ответственных механизмов. Могут рассматриваться варианты нарушений, требующие дальнейших дополнительных исследований:

- тромбоцитопения,
- тромбоцитопатия,
- коагулопатия, за счет недостаточности факторов, или гемодилюционная,
- синдром ДВС,
- заболевания печени,
- чрезмерная антикоагуляция и др.

Последующее клиническое решение включает выбор программы дообследования, диагностики основного заболевания, назначение гемостатической терапии. Дополнительные тесты в оценке плазменного гемостаза: опре-

деление активности факторов свертывания крови, активности и антигена фактора Виллебранда.

Приобретенные нарушения системы гемостаза, связанные с геморрагическими проявлениями, встречаются намного чаще, чем врожденные. Геморрагические проявления могут сопровождать патологию печени, заболевания щитовидной железы, быть спровоцированы также приемом лекарственных препаратов, таких как оральные антикоагулянты, гепарины, фибринолитики, аспирин, цитостатики и др.

Геморрагии, сопровождающие синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС), осложняющий многие заболевания, обусловлены системной активацией свертывания, формированием внутрисосудистых депозитов фибрина и потреблением факторов свертывания и тромбоцитов. Иногда эта активация умеренно выражена и бессимптомна, но в более тяжелых формах она может преобладать в клинической картине и проявляться в виде кровоточивости и/или тромбозов.

При различных причинах возникновения синдрома ДВС патофизиологические механизмы схожи: 1) генерация тромбина *in vivo*, 2) распространение и постоянное поддержание активности этого процесса, 3) сопутствующая активация воспалительного каскада, 4) повреждение эндотелия в микрососудистом русле.

В настоящее время не существует какого-то одного теста, который мог бы однозначно подтвердить или отвергнуть синдром ДВС. В соответствии с современными патогенетическими представлениями необходимо базироваться на клинической картине и диагнозе, также принимая во внимание и лабораторные исследования. Синдром ДВС является очень динамичным процессом, следовательно, в оценке больного мы должны успевать проследить этот динамизм. Таким образом, сочетание

клинического наблюдения и панели лабораторных тестов с обязательным их повторением позволяет с уверенностью ставить диагноз в большинстве случаев. Диагноз синдрома ДВС должен быть обоснован комбинацией исследований: количество тромбоцитов, общие клоттинговые тесты (АПТВ, протромбиновое время), исследование активности 1–2 факторов свертывания и ингибиторов (антитромбина) и тесты для обнаружения продуктов деградации фибрина. Выполнение исследований в динамике значительно важнее, чем единичные лабораторные тесты.

Решающим в диагностике ДВС является определение выявления молекулярных свидетелей формирования фибрина. Для этой цели широко используется D-димер, хотя он не именован конкретно ни в одной диагностической шкале. Более специфично исследование растворимого фибрина в плазме методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением. В основе теста лежит реакция «антиген — антитело» со строго определенными моноклональными антителами. К сожалению, широко распространенный тест РФМК (растворимые фибрин-мономерные комплексы), ортофенантролиновый тест, имеет малую клиническую ценность, так как основан на неспецифической химической реакции.

У больных с синдромом ДВС целесообразно дополнительное исследование антитромбина для оценки потребления компонентов противосвертывающей системы.

В некоторых странах предложены собственные расчетные критерии. Так, в Японии в алгоритм диагностики включено большее количество клинических признаков (температура, пульс, частота дыхательных движений, наличие синдрома системной воспалительной реакции). Лабораторные исследования дополнены показателями клинического анализа крови (лейкоциты, сдвиг формулы влево). Однако

основные лабораторные критерии коагуляции немногочисленны и стандартны — тромбоциты, протромбиновое время, фибриноген. Принципиальное отличие шкалы ISTH состоит также в обязательном выявлении и учете возможной причины ДВС, которая в японской шкале не учитывается [5].

Второй клинический синдром патологии гемостаза — тромбозы. В оценке клинической ситуации необходимо иметь в виду локализацию тромбоза — артериальный (обычно — атеротромбоз или тромбоз по иной причине в артериях мелкого и среднего калибра — острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт или критическая ишемия нижних конечностей; реже — тромбоз эмболия) или венозный (обычно — нижние конечности, значительно реже — верхние конечности или сосуды внутренних органов), наличие провоцирующего фактора в виде операции, травмы, тяжелого инфекционно-воспалительного заболевания и/или наличие факторов риска тромбозов с определением вероятной причины и риска рекуррентного тромбообразования. В оценке больного должна быть учтена терапия лекарственными средствами, которые могут провоцировать тромбоз или не предотвращать его в достаточной степени: эстроген-содержащими препаратами, кортикостероидами, L-аспарагиназой, тамоксифеном, антикоагулянтами (в частности, риск гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбозов) или антиагрегантами.

Следующий шаг — оценка индивидуального и семейного анамнеза. Необходимо выяснить наличие тромбозов и ишемических сосудистых событий в анамнезе, акушерско-гинекологического анамнеза, тромботические эпизоды и смертельные исходы в молодом возрасте у родственников первой линии.

Количество тромбоцитов может выявить тромбоцитоз. Увеличение количества тромбоцитов в периферической крови носит вторич-

ный характер и может быть связано с реакцией, прежде всего на воспалительный процесс; необходимо помнить об онкогематологических заболеваниях — миелопролиферативном процессе. В последнем случае количество тромбоцитов превышает $1000 \times 10^9/\text{л}$.

Скрининговые тесты плазменного гемостаза не имеют клинического значения в диагностике тромбозов и их риска, так как отражают только 5% генерации тромбина за счет детекции начального этапа свертывания (технологическая особенность). АЧТВ, которое является исключительно важным в определении причин кровоточивости, имеет ограниченные возможности в оценке претромботических состояний или диагностики тромбозов. Многими исследователями на больших группах больных была показана ассоциация укорочения АЧТВ с риском тромбообразования [6]. Однако значение результата для отдельного индивидуума определить трудно. Имеет смысл оценивать его в динамике нескольких измерений или использовать оценку «волнового» варианта АЧТВ (waveform APTT).

Протромбиновый тест. Клинического значения укорочение протромбинового времени и повышения % протромбина по Квику не имеет. Необходимо только помнить, что снижение протромбина (увеличение МНО) у больных с заболеваниями печени отражает гипокоагуляцию, но не исключает риска тромбоза, что является особенностью состояния гемостаза у этих пациентов с сохранением неустойчивого равновесия, способного в любой момент «свалиться» в сторону как кровотечения, так и тромбоза [7].

Уровень фибриногена у больного с тромбозом выступает в качестве маркера активации свертывания крови и белка острой фазы воспаления.

Значение измерения концентрации D-димера в тромботической ситуации трудно пере-

оценить. Особенно важно это исследование у пациента с подозрением на тромбоз при низкой или умеренной вероятности болезни. D-димер может также выступать в качестве дополнительного маркера эффективности антитромботической терапии [8].

Дополнительная программа лабораторного обследования при наличии тромбоза должна быть направлена на выявление гематологических рисков и подтверждение/исключение наследственной и приобретенной тромбофилии. Показания для проведения такого обследования:

- Непровоцированный характер тромбоза в молодом возрасте (без явного триггерного механизма — операция, травма, длительная иммобилизация и т. д.).
- Рецидивирующий характер.
- Необычная локализация тромбоза (вены верхних конечностей, печеночная, селезеночная вены, то есть не нижние конечности).
- Даже первый эпизод у лиц с семейной историей тромбозов (у родственников первой линии).
- Развитие тромбозов в связи с беременностью, родами, приемом гормональной заместительной терапии или комбинированных оральных контрацептивов.
- Невынашивание беременности, потеря плода во втором и третьем триместре неясной этиологии.

Поиск причин должен идти по нескольким направлениям — выявление генетических факторов риска (наследственной тромбофилии, смешанных вариантов и генов предрасположенности) и обнаружение антифосфолипидного синдрома. Наследственной тромбофилией принято называть наличие факторов, строго предрасполагающих к развитию первого эпизода тромбоза — дефицита антитромбина, протеинов C, S и двух мутаций — гена фактора V (Лейденская мутация) и мутации гена про-

тромбина G20210A. К наследственно детерминированному фактору риска относят также «не 0» группу крови и гипергомоцистеинемию высокого уровня (более 30 мкмоль/л).

Особое место в ряду причин первичных и повторных тромбозов (артериальных и венозных) занимает антифосфолипидный синдром (АФС). В настоящее время разработаны критерии его диагностики, которые включают клинические и лабораторные признаки. К клиническим признакам относится наличие подтвержденных артериальных или венозных тромбозов без признаков воспалительного процесса в сосудистой стенке или синдром потери плода (3 потери по необъяснимой причине на сроке до 10 недель, гибель морфологически нормального плода на сроке после 10 недель или преждевременные роды до 34-й недели по причине тяжелой преэклампсии или эклампсии). Лабораторные признаки включают выявление (в любом сочетании и в высоком или умеренном титре) антикардиолипидных антител (аКЛА) классов IgG/IgM, антител к $\beta 2$ гликопротеину 1 ($\alpha\beta 2$ ГП1А) классов IgG/IgM, волчаночного антикоагулянта (ВА), исследованного в соответствии с международными требованиями двумя лабораторными методами в скрининговом и подтверждающем тестах с представлением результатов в виде нормализованного отношения. Положительный результат лабораторных тестов должен быть подтвержден дважды с интервалом не менее 12 недель. Если относится строго к диагностическим критериям и их наличие, то оказывается, что распространенность АФС невелика, но риск рецидивов у таких пациентов очень высокий и они нуждаются в активной антитромботической терапии. Наиболее уязвимыми являются больные с так называемой тройной позитивностью, то есть определяемыми постоянно аКЛА, $\alpha\beta 2$ ГП1А и ВА.

В *таблице 2* представлены данные о распространенности и рисках развития тромбозов у лиц с наследственной тромбофилией и АФС [9].

Таким образом, программа дополнительно лабораторного обследования больного с тромбозом направлена на выяснение причин тромбоза, а также на оценку степени активации свертывания в динамике с целью уточнения прогноза, контроля антитромботической терапии и принятия решения об ее отмене [2].

Оценка причин тромбоза:

1. Антитромбин, протеин С, протеин — связанный и свободный.
2. Генетический анализ на тромбофилию: фактор V Leiden, фактор II G20210A.
3. Гомоцистеин.
4. Группа крови (имеет значение «не 0»).
5. Антифосфолипидный синдром.
6. Наличие воспалительной реакции (С-реактивный белок, клинический анализ крови, провоспалительные цитокины).

Определение маркеров активации свертывания:

1. Фибриноген.
2. Фактор VIII, активность.
3. Фактор Виллебранда, антиген.
4. D-димер количественно.
5. Функциональная активность тромбоцитов (лучше двумя методами).
6. Тест генерации тромбина, который показывает обнадеживающие результаты, но пока используется только в научных целях.

В построении данной программы очень важны сроки и условия проведения исследований. Только генетический анализ может быть проведен в остром периоде тромбоза. Остальные лабораторные тесты должны быть отложены на срок не менее 3 месяцев (минимальный срок лечения острого тромбоза). Причин тому несколько: в остром периоде и на фоне терапии антикоагулянтами могут быть получе-

ны недостоверные результаты функциональных тестов, требуется отмена терапии на несколько дней, что может быть сделано не ранее чем через 3 месяца, а главное — результаты тестов не влияют на тактику первичного лечения тромбоза.

Важнейший раздел лабораторной диагностики в лечении больных с тромбозами — контроль антитромботической терапии, основные принципы которого сводятся к следующему:

1. Исследование функции тромбоцитов при использовании антиагрегантов у больных с артериальными сосудистыми событиями в рутинной клинической практике не показано. Определенную пользу измерение остаточной реактивности тромбоцитов может принести в отдельных группах пациентов — при рецидивировании тромбозов стентов, при геморрагических осложнениях или переходе с одного препарата на другой или замене оригинального препарата на биологический аналог.

2. Контроль нефракционированного гепарина на начальном этапе лечения основывается на АЧТВ. Целевое значение — удлинение в 1,5—2,5 раза по сравнению с нормальной плазмой.

3. Контроль лечебных доз низкомолекулярных гепаринов может быть осуществлен с помощью определения антиХа-активности в отдельных группах больных (беременные, лица с почечной недостаточностью, лица с чрезмерно высокой или низкой массой тела).

4. Лабораторная оценка действия прямых ингибиторов факторов свертывания («новые» пероральные антикоагулянты) не нужна. В отдельных клинических ситуациях (необходимость экстренной операции, кровотечения или для определения приверженности больного лечению) могут быть полезны скрининговые тесты: АЧТВ и тромбиновое время для дабигатрана и протромбиновый тест для рива-

ТАБЛИЦА 2. Распространенность и риски развития тромбозов у лиц с наследственной тромбофилией и антифосфолипидным синдромом

Тромбофилия	Распространенность в популяции	Относительный (абсолютный аннуализированный) риск первого эпизода ВТЭО	Относительный риск повторного тромбоза
Фактор V Лейден, гетерозиготное носительство	2—7%	3,48—5,51 (0,05—0,2%)	1,1—1,8
Фактор V Лейден, гомозиготное носительство	0,06—0,25%	6,79—19,29 (0,8%)	1,8
Мутация гена протромбина G20210A, гетерозиготное носительство	1—2%	2,25—3,48 (0,13%)	0,7—2,3
Мутация гена протромбина G20210A, гомозиготное носительство	Редко	2,19—20,72	Не определен
Сочетание мутации фактора V Лейден и мутации гена протромбина G20210A (компаунд гетерозигота)	0,1%	1,13—5,04% (0,42%)	2,7
Дефицит протеина C	0,2—0,5%	10 (0,4—2,3%)	1,8
Дефицит протромбина S	0,1—1,7%	9,6 (0,7—3,2%)	1,0
Дефицит антитромбина	0,02%	10—30 (1,2—4,4%)	2,6
Антифосфолипидный синдром	2%	7	1,5—6,8

роксабана и аписабана (удлинение времени непостоянно и недозозависимо). Специальные тесты измерения концентрации с помощью антиХа-активности (для ингибиторов фактора Ха) или определения экаринового/разведенного тромбинового времени (для дабигатрана) пока недоступны в большинстве лабораторий.

5. Контроль терапии антивитамином К-препаратами — протромбиновый тест в виде МНО с поддержанием показателя в целевом диапазоне, в основном от 2,0 до 3,0, реже — 2,5—3,5. Возможно использование портативных коагу-

лометров для самоконтроля приема варфарина со стороны больного.

6. Генетическое исследование полиморфизмов гена CYP2C9 и VKORC1 для оценки риска геморрагических осложнений и более корректного подбора дозы варфарина не поддерживается международными рекомендациями, однако в отдельных исследованиях, в том числе российском исследовании ВАРФАГЕН, показана определенная клиническая польза, возможно, за счет более тщательного ведения включенных в исследование пациентов [10].

7. D-димер должен быть измерен в момент отмены длительной антикоагулянтной терапии и через месяц после отмены с целью прогнозирования риска рецидивов (достоверное увеличение риска и необходимость продления терапии при повышении уровня D-димера) [8].

Таким образом, на основании результатов исследований у больного с тромбозом могут приниматься важнейшие клинические решения: от постановки диагноза до определения рисков рецидивирования с построением соответствующей программы вторичной профилактики и выбора характера терапии.

Геморрагические эпизоды в анамнезе или у ближайших родственников (при условии их прослеживаемости у нескольких лиц) могут явиться показанием к обследованию по программе больного с кровотечением, особенно в

ситуации предстоящего риска кровотечений (оперативное вмешательство, роды).

Семейная история тромбозов или выявленная у родственников первой линии наследственная тромбофилия также может быть основанием для лабораторной оценки гематологических рисков. Однако в этом случае всегда нужно взвесить соотношение пользы, которую можно получить в результате такого обследования, и связанных с ним рисков или неудобств, включая психологическую и экономическую нагрузку, возможную страховую и социальную дискриминацию (при трудоустройстве). Если решение об обследовании принимается, то по его результатам можно целенаправленно строить программу профилактики в ситуациях риска, изменения стиля жизни, планирования беременности и методов контрацепции.



ИСТОЧНИКИ

1. Бокарев И.Н. с соавт. Лабораторные методы исследования системы свертывания крови. Методические рекомендации Ассоциации по тромбозам, гемостазу и патологии сосудистой стенки им. А.А. Шмидта — Б.А. Кудряшова. М., 2012. 48 с.
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.: ГЭОТАР-Медиа, 2014: 517-564.
3. Пильманов А.Ж., Вавилова Т.В., Мамаев А.Н. Коагулологические исследования. В кн.: Национальное руководство. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. Т. 1. Под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 749-815.
4. Сироткина О.В., Гайковая Л.Б., Кухарчик Г.А., Шабров А.В. Способ оценки эффективности действия антиагрегантных препаратов, влияющих на метаболизм арахидоновой кислоты путем ингибирования циклооксигеназы-1 как в отдельности, так и совместно с антагонистом рецептора АДФ P2Y₁₂ на тромбоцитарных мембранах, на состояние тромбоцитов крови пациента, принимающего антиагрегантные препараты указанной группы. Патент на изобретение №2442167, бюллетень №4 от 10.02.2012.
5. Taylor FB Jr et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Haemostasis*, 2001, Nov, 86(5): 1327-30.
6. Sorensen B, Ingerslev J. Dynamic APTT parameters: applications in thrombophilia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2012, 10: 244-50.
7. Khoury T, Ayman AR, Cohen J, Daher S, Shmuel C, Mizrahi M. The Complex Role of Anticoagulation in Cirrhosis: An Updated Review of Where We Are and Where We Are Going. *Digestion*, 2016, 93: 149-159.
8. Kearon C et al. Antithrombotic Therapy for VTE Disease. *CHEST Guideline and Expert Panel Report*, 2016, 149(2): 315-352.
9. Stevens S.M. et al Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J Thrombosis Thrombolysis*, 2016, 41: 154-164.
10. Кропачева Е.С. с соавт. Исследование фармакогенетики варфарина и клопидогрела для оптимизации антитромботической терапии. Пособие для врачей. М., 2015. 71 с.