



Библиотека
врача-специалиста

Гематология

Болезни крови в амбулаторной практике

Под редакцией профессора И.Л. Давыдкина

3-е издание,
исправленное и дополненное



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2020

СОДЕРЖАНИЕ

Коллектив авторов	5
Список сокращений	7
Предисловие	11
ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ	13
Понятие о крови и кроветворении	13
Клинический анализ периферической крови	15
Форменные элементы крови	15
Система гемостаза	19
Методы исследования	28
Опрос пациента	28
Физические методы исследования	32
Лабораторные методы исследования	35
Методы исследования гемостаза	41
Методы исследования коагуляционного гемостаза	49
Исследование фибринолитической (плазминовой) системы	60
Определение маркеров внутрисосудистого свертывания крови	64
ЧАСТЬ II. ЧАСТНАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ	68
Анемии	68
Общие понятия	68
Железодефицитная анемия	70
Анемия хронических заболеваний	77
В ₁₂ -дефицитная анемия	79
Наследственная сфероцитарная анемия	84
Аутоиммунная гемолитическая анемия	89
Апластическая анемия	95
Лейкозы	101
Общие понятия	101
Острые лейкозы	103
Хронические лейкозы	112
Хронический миелолейкоз	112
Первичный миелофиброз	119
Истинная полицитемия (эритремия)	124
Хронический лимфолейкоз	132
Множественная миелома	138

Лейкемоидные реакции	144
Нейтропении	147
Геморрагические болезни	151
Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура	151
Вторичные тромбоцитопении	158
Вторичная тромбоцитопения, обусловленная хроническим гепатитом и циррозом печени вирусной этиологии	158
Лекарственные тромбоцитопении	161
Нарушения тромбоцитарного гемостаза при ВИЧ-инфекции	162
Гемофилия	165
Болезнь Виллебранда	194
Геморрагический васкулит	211
Наследственная геморрагическая телеангиэктазия	216
Диспансеризация больных с заболеваниями системы крови	219
Анкета	220
Диспансеризация больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой	225
Диспансеризация больных геморрагическим васкулитом	227
Диспансеризация больных гемофилиями	227
Осложнения цитостатической терапии гемобластозов	228
Список литературы	261

Часть I

Общая гематология

ПОНЯТИЕ О КРОВИ И КРОВЕТВОРЕНИИ

Кровь — внутренняя среда организма, жидкость, содержащая клеточные элементы, заключенная в кровеносной системе и пребывающая в постоянной циркуляции благодаря деятельности сердца и экстракардиальных факторов.

Основные функции крови:

- транспортная — доставка из легких на периферию к тканям и клеткам организма кислорода, необходимого для окислительных процессов, а также питательных веществ из кишечника (белков, углеводов, жиров, витаминов, солей, воды);
- удаление углекислого газа и продуктов обмена через экскреторные системы (легкие, кишечник, печень, почки, кожу);
- участие в процессах нейрогуморальной регуляции;
- защитная (клеточный и гуморальный иммунитет);
- участие в физико-химической регуляции гомеостаза (температурного, осмотического, кислотно-щелочного, онкотического, коллоидно-осмотического, химического).

Среднее количество крови в организме взрослого человека составляет около 5 л, что соответствует 1/11–1/14 массы тела, большая часть которой приходится на внутренние органы. Удельный вес крови человека в норме

составляет 1,05–1,06; вязкость — 4–5; осмотическое давление — 7,7–8,1 атм; онкотическое давление — $1/200$ осмотического давления плазмы крови; рН 7,35–7,45.

Клеточные элементы составляют примерно 40% объема крови, 60% приходится на ее жидкую часть — плазму. Объемные соотношения между плазмой и форменными элементами определяют с помощью гематокрита.

Кроветворение (гемопоз) — процесс образования и развития форменных элементов крови в кроветворных органах. Теории кроветворения:

- унитарная (Максимов А.А., 1909): все форменные элементы крови развиваются из единого предшественника — стволовой клетки;
- дуалистическая, которая предусматривает два источника кроветворения — отдельных для миелоидной и лимфоидной систем;
- полифилетическая — для каждого форменного элемента существует свой источник развития.

В настоящее время общепринята унитарная теория, на основе которой разработана схема кроветворения (Чертков И.Л., Воробьев А.И., 1973). В процессе поэтапной дифференцировки стволовых клеток в зрелые форменные элементы крови в каждом ряду образуются промежуточные типы клеток, которые в схеме кроветворения составляют классы клеток.

Схема предусматривает выделение шести классов клеточных форм. I класс — полипотентные клетки-предшественники, способные дифференцироваться по всем росткам кроветворения. II класс — частично детерминированные полипотентные клетки-предшественники — ограниченно полипотентные клетки-предшественники миелопоэза и лимфопоэза с ограниченной способностью к самоподдержанию. III класс — унипотентные клетки-предшественники, не способные к длительному самоподдержанию, но способные к пролиферации и дифференцировке. Это клетки-предшественники отдельных рядов дифференцировки в кроветворно-лимфатической системе, на уровне которых осуществляется основная количественная регуляция кроветворения. В костном мозге различаются две категории клеток-предшественников лимфоцитов: предшественники В- и Т-лимфоцитов. Клетки трех первых классов схемы кроветворения, морфологически не идентифицируемые, существуют в двух формах — бластной и лимфоцитоподобной. На уровне IV класса появляются принципиальные различия между кроветворной и лимфатической системами. Это морфологически распознаваемые пролиферирующие

клетки, дающие начало отдельным рядам миелопоэза (гранулоцитопоезу, моноцитопоезу, эритропоэзу, мегакариоцитопоезу, лимфопоэзу). К V классу относятся созревающие клетки, к VI — зрелые клетки с ограниченным жизненным циклом (рис. 1).

Клинический анализ периферической крови

Общий анализ крови включает определение количества форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), исследование лейкоцитарной формулы, определение скорости оседания эритроцитов и содержания в них гемоглобина.

Форменные элементы крови

Различают три основные группы форменных элементов крови: эритроциты; лейкоциты; кровяные пластинки, или тромбоциты.

Эритроциты — двояковогнутые безъядерные клетки (дискоциты) (рис. 2, см. цветную вклейку) диаметром 7–8 мкм, площадью 140 мкм², объемом 90 мкм³, толщиной 1–2,4 мкм. Нормальные показатели количества эритроцитов в крови: у мужчин — $(4,0–5,5) \times 10^{12}/л$; у женщин —

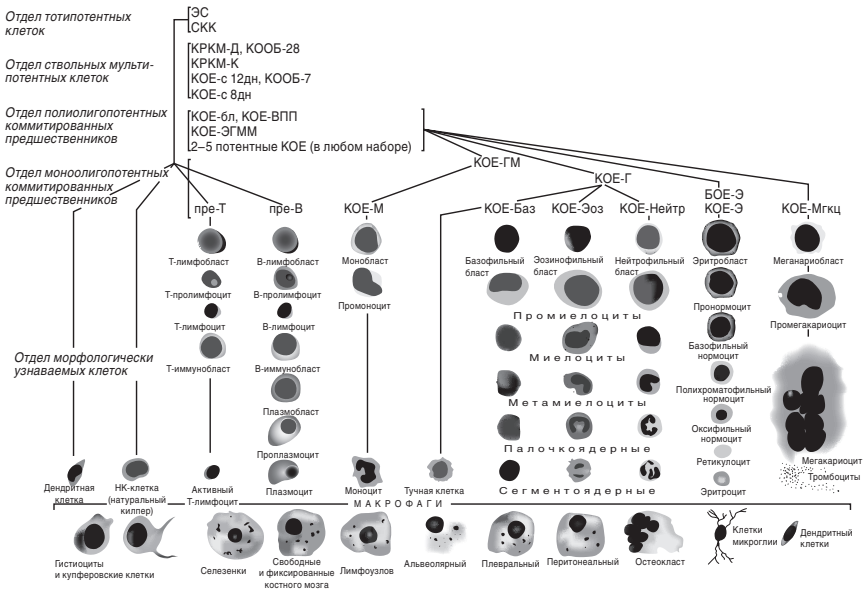


Рис. 1. Кроветворение (Чертков И.Л., Воробьев А.И.)

$(3,8-4,5) \times 10^{12}/л$. Эритроциты образуются в костном мозге из эритробластов. За сутки их вырабатывается около 200 млрд. Эритроциты здоровых людей в мазке крови приблизительно равны по размерам, округлые, с равномерной окраской и небольшим просветлением в центре.

При различных формах анемий появляются эритроциты неодинакового размера (анизоцитоз), окраски (анизохромия) и формы (пойкилоцитоз). Эритроциты большего диаметра описываются как макроциты, меньшего — как микроциты.

Основная функция эритроцитов — обеспечение дыхания тканей и перенос в обратном направлении углекислого газа.

Сухое вещество эритроцита содержит до 95% гемоглобина (Hb). *Гемоглобин* — дыхательный пигмент, с помощью которого осуществляется транспорт молекулярного кислорода из легких к тканям. Молекула гемоглобина состоит из простетической группы — гема, относящегося к порфиринам, в состав которого входят атом железа и белок типа альбумина — *глобин*. На долю гема приходится 4% веса молекулы гемоглобина. В оксигемоглобине и редуцированном гемоглобине железо находится в двухвалентной форме. Созревающие эритроидные клетки костного мозга постоянно потребляют железо для синтеза гемоглобина. Клетки, содержащие железоположительные включения, называются сидеробластами, сидероцитами и сидерофагами. Разрушение оболочки эритроцитов с выходом гемоглобина в плазму крови называется *гемолизом*.

Увеличение количества эритроцитов в крови наблюдается при эритремии и симптоматических эритроцитозах.

Уменьшение количества эритроцитов характерно для анемии различной этиологии. При железодефицитной анемии количество эритроцитов может находиться на нижней границе нормы или быть уменьшенным. Подсчет эритроцитов производится с помощью электронных счетчиков форменных элементов, гематологических автоматизированных анализаторов и унифицированным методом подсчета в счетной камере Горяева.

Нормальные показатели содержания гемоглобина в крови: у мужчин — 130–160 г/л, у женщин — 120–145 г/л (у беременных 110–145 г/л).

Повышенное содержание Hb в крови характерно для эритремии и симптоматических эритроцитозов, снижение — для всех форм анемий, гемобластозов, злокачественных опухолей, хронических воспалительных процессов. При некоторых наследственных формах гемолитических анемий возникает необходимость определения отдельных

фракций Hb, включая патологические: у взрослых — фракции Hb A (96–98%), Hb F (2%). Содержание гемоглобина характеризует *цветовой показатель*. Его норма 0,86–1,05. Низкий цветовой показатель (менее 0,8) характерен для хронической железодефицитной анемии, выше 1,05 — для V_{12} - и фолиеводефицитной анемий. Для более точной характеристики физико-химических свойств эритроцитов подсчитываются другие индексы: средняя концентрация гемоглобина (MCHC — 33–36/100 г/мл) и среднее объемное содержание гемоглобина в эритроците (MCH — 28–33 пг), средний объем эритроцитов (MCV — 80–95 фл). Общий объем эритроцитов характеризует взаимоотношение между объемом плазмы крови и эритроцитами.

Ретикулоциты (рис. 3, см. цветную вклейку) представляют собой молодые формы эритроцитов, в цитоплазме которых после потери ядра остались агрегированные клеточные органеллы — рибосомы и митохондрии — в виде зернисто-нитчатой субстанции, различающиеся по степени зрелости. Время их жизни в костном мозге — 36–44 ч, в периферической крови — 24–29 ч. В норме содержание ретикулоцитов у взрослого человека колеблется от 0,2 до 1,2% общего количества эритроцитов. Увеличенное количество ретикулоцитов — критерий активации кроветворения в костном мозге при гемолитической анемии, после кровопотери, а сниженное — характерно для апластической анемии.

Лейкоциты. Норма — $(4-9) \times 10^9$ /л крови. Их количество зависит от скорости образования в лимфатических узлах, селезенке и костном мозге, мобилизации из костного мозга, утилизации и миграции в ткани, захвата легкими и селезенкой, физиологических факторов.

Основная функция гранулоцитов (прежде всего нейтрофильных) — фагоцитоз.

Лейкоциты обеспечивают главным образом иммунитет. Они подразделяются на гранулоциты (зернистые) и агранулоциты (незернистые). В группу гранулоцитов входят нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, в группу агранулоцитов — лимфоциты и моноциты.

Повышение количества лейкоцитов до нескольких десятков тысяч в микролитре (мкл) — *лейкоцитоз* — наблюдается при острых воспалительных и инфекционных заболеваниях, сопровождается сдвигом лейкоцитарной формулы влево или лимфоцитозом. Повышение количества лейкоцитов до нескольких сотен тысяч может указывать на лейкоз. При тяжелых инфекционных заболеваниях изменяется морфология нейтрофилов: отмечают дегрануляция, вакуолизация и т.д. Уменьшение количества лейкоцитов ниже 4000/мкл указывает

на *лейкопению* и может быть связано с применением различных лекарств, повышенным радиоактивным фоном, урбанизацией и др. *Нейтронения* появляется под влиянием цитостатиков, при системной красной волчанке, ревматоидном артрите, малярии, сальмонеллезе, бруцеллезе, как специфический синдром при СПИДе и облучении.

Лейкоциты нейтрофильные (рис. 4, см. цветную вклейку). Содержание в крови — 50–75%, или $(2,2-6,5) \times 10^9/\text{л}$. Диаметр 10–12 мкм. Ядро компактное, состоит из 3–4 сегментов, соединенных мостиками, цитоплазма с обильной зернистостью. При инфекциях и воспалениях нейтрофилы выполняют функцию микрофагов — клеток, способных к фагоцитозу.

Лейкоциты эозинофильные (рис. 5, см. цветную вклейку). Норма — 1–5% лейкоцитов, или $(0,1-0,4) \times 10^9/\text{л}$. Клетки крупнее нейтрофилов, диаметр до 12 мкм. Ядро состоит чаще из двух, реже из трех сегментов. Цитоплазма слегка базофильная, содержит крупную, ярко окрашивающуюся эозином зернистость, дающую положительную оксидазную, пероксидазную, цитохромоксидазную, сукцинатдегидрогеназную, кислофосфатазную реакции. Эозинофилы способны к фагоцитозу, принимают участие в дезинтоксикации продуктов белковой природы и аллергических реакциях организма. Эозинофилия характерна для гельминтозов, опухолей, возможна на стадии выздоровления при инфекционных заболеваниях.

Лейкоциты базофильные (рис. 6, см. цветную вклейку). Содержание в крови — 0–1% (до $0,1 \times 10^9/\text{л}$). Диаметр от 8 до 12 мкм. Ядро широкое, неправильной формы. Цитоплазма содержит крупную зернистость, окрашивающуюся метакроматически в фиолетово-черные тона. Участвуют в аллергических реакциях (немедленного и замедленного типов), продуцируют гистамин и гепарин (группа гепариноцитов).

Моноциты/макрофаги (рис. 7, см. цветную вклейку). Норма — 2–10% лейкоцитов, $(0,2-0,8) \times 10^9/\text{л}$. Размеры от 12 до 20 мкм. Ядро крупное, рыхлое, с неравномерным распределением хроматина. В крови циркулируют недолго, переходят в ткани, трансформируясь в макрофаги. Ведущие клетки иммунного ответа организма. Основная функция — эндоцитоз. Являются центральным звеном мононуклеарной фагоцитарной системы. Выполняют ряд цитокинзависимых функций: гемопоэтическую, иммуностимулирующую, провоспалительную, иммуносупрессивную и противовоспалительную.

Лимфоциты. Норма — 18–38%, или $(1,5-3,6) \times 10^9/\text{л}$. Диаметр лимфоцита 7–9 мкм, редко до 15 мкм. Ядро округлое или овальное, структура

хроматина компактная. Цитоплазма чаще едва заметна вокруг ядра, темно-голубая, но встречаются лимфоциты с более широкой цитоплазмой небесно-голубого или сероватого цвета (рис. 8, 9, см. цветную вклейку). Выделяются Т-лимфоциты (тимусзависимые) и В-лимфоциты (антителообразующие клетки), по морфологии трудно различимые. Лимфоцит играет главную роль в иммунных процессах, являясь носителем иммунологической информации. Ядро — доминирующий компонент клетки. Повышенное количество лимфоцитов (*лимфоцитоз*) типично для коклюша, инфекционного мононуклеоза, вирусных инфекций, заболеваний системы крови.

Тромбоциты. Норма — $(160-320) \times 10^9/\text{л}$ крови. Это мелкие образования диаметром 2–4 мкм, кровяные пластинки округлой, овальной или неправильной формы (рис. 10, см. цветную вклейку). Окрашиваются эозином слабобазофильно, иногда в розовые тона. Представляют собой фрагменты мегакариоцитов. Различают 4 основные формы тромбоцитов:

- 1) нормальные (зрелые) — округлой формы, диаметр 3–4 мкм;
- 2) юные (незрелые) — несколько больших размеров с базофильной цитоплазмой;
- 3) старые — круглой, овальной или зубчатой формы с узким ободком темной цитоплазмы с грубой грануляцией;
- 4) формы раздражения — больших размеров, вытянутые, с неравномерно разбросанной зернистостью.

Повышение количества тромбоцитов — симптом первичной тромбоцитемии, наблюдаемой при миелопролиферативных заболеваниях, часто сопровождается хроническими воспалительными процессами; уменьшение тромбоцитов свидетельствует о торможении образования мегакариоцитов (лейкоз, апластическая анемия, гемоглобинурия) или разрушении их в селезенке (аутоиммунные заболевания). Нарушения функции тромбоцитов могут быть обусловлены генетическими или внешними факторами.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА

Система гемостаза — одна из фундаментальных регуляторных систем организма, способствующих сохранению постоянства его внутренней среды. Согласно общепринятому определению З.С. Баркагана и А.П. Момота (1999), система гемостаза — сложная биологическая система, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение жидкого состояния

циркулирующей крови, а с другой — предупреждающая и купирующая кровотечения при нарушении целостности сосудистой стенки.

Основными структурными компонентами системы гемостаза, функционально тесно связанными друг с другом, являются сосудистая стенка и клеточные элементы крови, в основном тромбоциты и гуморальные системы, представленные факторами свертывания белковой природы.

При повреждении сосудистой стенки запускается ряд последовательных реакций, направленных на остановку кровотечения и восстановление сосудистой стенки. Вазоконстрикция — самый ранний механизм активации тромбоцитарно-сосудистого гемостаза, развивающийся немедленно после травмы и особенно эффективный в системе микроциркуляции. Она обусловлена взаимодействием автономной нервной системы, мышечных клеток, медиаторов (серотонин, адреналин, норадреналин и др.), простагландинов и способствует уменьшению кровопотери в течение первых 30 мин после повреждения. На начальных этапах гемостаза также происходит активация тромбоцитов и реализуется тромбогенный потенциал эндотелия, клетки которого начинают выделять в кровоток субстанции (тромбоксан А₂, фактор Виллебранда и др.), участвующие в образовании первичного тромба. Данный этап гемостаза называется сосудисто-тромбоцитарным (первичным). Внутренняя выстилка сосудов представляет собой клетки эндотелия, обладающие в нормальных условиях высоким антитромбогенным потенциалом, обеспечивающим тромборезистентность кровеносных сосудов. Неповрежденный эндотелий продуцирует мощный ингибитор агрегации тромбоцитов простагландин (P_gI₂), активатор фибринолиза — тканевый активатор плазминогена (t-PA), ингибитор механизма внешнего пути свертывания крови (TFPI), оксид азота (NO), который блокирует активность тромбоцитов и расширяет кровеносные сосуды. В мембране эндотелиоцита расположен рецепторный гликопротеин тромбомодулин (ТМ), который посредством взаимодействия с тромбином, одним из основных факторов свертывания крови, способствует активации протеина С, являющегося, напротив, компонентом противосвертывающей системы. Противотромботический потенциал усиливается расположенными на поверхности эндотелия отрицательно заряженными гликозаминогликанами, потенцирующими действие ингибитора свертывания антитромбина III (АТ III). Помимо этого, эндотелиоциты осуществляют барьерно-транспортную, прокоагулянтную функции, участвуют в регуляции тонуса сосудов.

Под повреждением сосудистой стенки понимают не только нарушение механической целостности, но и изменение функционирования

эндотелия при различных заболеваниях. Нарушение тромборезистентности вызывается иммунными комплексами, бактериальными эндотоксинами, лейкоцитарными протеазами, цитокинами, холестерином, триглицеридами (ТГ), липопротеинами низкой плотности (ЛПНП), гомоцистеином (ГЦ), выбросами адреналина и вазопрессина и др. Многие повреждения сосудистой стенки связаны также с гипоксическими влияниями (нарушения микроциркуляции, повышение вязкости крови, сладж и агрегация эритроцитов, нарушение их способности к деформации).

Повреждение эндотелия сопровождается повышением тромбогенных свойств и снижением тромборезистентности, что проявляется усилением продукции протромботических субстанций: тромбксана А₂, фактора Виллебранда, ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), ингибиторов фибринолиза (РАI-1, РАI-2) и эндотелина I. Повышение их концентрации в крови используется в качестве маркера эндотелиальной дисфункции.

Тромбоциты — кровяные пластинки; играют важнейшую роль в процессе первичного гемостаза, а также свертывания крови. Продолжительность их жизни у здоровых людей составляет около 10 сут, уменьшение срока их пребывания в кровотоке наблюдается при заболеваниях артерий, сахарном диабете, артериальной гипертензии, гипергомоцистеинемии, у пациентов с искусственными клапанами сердца.

В интактном состоянии тромбоциты имеют дискоидную форму и гладкую поверхность. Они являются лабильной системой, и воздействие на них активирующих влияний (агонистов) вызывает специфические структурные преобразования, приводящие к изменению их морфофункционального состояния. Морфологические и биохимические преобразования в тромбоцитах происходят уже в первые секунды после повреждения сосуда и заключаются в первую очередь в изменении их формы. Интактный тромбоцит (дискоцит) превращается в дискоэхиноцит, у которого на поверхности появляются отростки, затем — в сфероцит, форма которого становится шарообразной, и в сфероэхиноцит, у которого не только изменяется форма, но и возрастает количество отростков. Оценка соотношения различных морфологических форм тромбоцитов с использованием фазово-контрастной микроскопии позволяет в лабораторных условиях выявлять повышенную функциональную активность тромбоцитов на ранних этапах ее возникновения. В процессе активации тромбоциты выбрасывают из цитоплазмы содержащиеся в гранулах тромбоцитарные факторы (реакция высвобождения). Среди них такие

медиаторы, как серотонин, тромбосан А₂, фактор Виллебранда, которые вызывают сосудистый спазм, адгезию и агрегацию тромбоцитов. Активация тромбоцитов происходит как под влиянием физических факторов (турбулентность потока крови в месте стеноза сосуда, стаз крови), так и под воздействием химических веществ [тромбин, адреналин, коллаген, аденозиндифосфат (АДФ) и др.]. В зоне повреждения сосуда в кровотоке выделяются АДФ, эпинефрин, серотонин, вазопрессин, тромбин, плазмин, тромбосан А₂, фактор Виллебранда, а в поврежденной стенке обнажаются субэндотелиальные структуры, являющиеся агонистами для тромбоцитов: коллаген, микрофибриллы.

Воздействие активирующих факторов приводит не только к изменению формы тромбоцитов, но и к экспозиции рецепторных групп мембранных гликопротеинов (GP) на поверхность клетки. Рецепторный аппарат тромбоцитов опосредует адгезию и агрегацию тромбоцитов и представлен интегринами — GP, избирательно связывающимися с белковыми структурами и адгезивными молекулами. Сужение просвета сосуда, увеличение ламинарного потока, снос более мелких по размерам тромбоцитов к стенке сосуда способствуют сближению кровяных пластинок и эндотелия. Происходит прилипание (адгезия) тромбоцитов к коллагеновым волокнам, обнажившимся вследствие травмы, к другим адгезивным белкам субэндотелия, а также к поступающему из плазмы фибриногену. Из адгезировавших тромбоцитов высвобождается АДФ — важнейший индуктор агрегации кровяных пластинок, действующий через пуриновые рецепторы мембраны (P2X₁, P2Y₁ и P2Y₁₂), передача сигнала с которых делает доступным гликопротеиновый комплекс GP IIb—IIIa для связывания с фибриногеном.

Под влиянием АДФ циркулирующие тромбоциты в зоне повреждения сосудистой стенки соединяются друг с другом, происходят процессы адгезии и агрегации кровяных пластинок. Процесс агрегации вызывается также всеми активными субстанциями, которые поступают в область повреждения не только из стимулированных при адгезии тромбоцитов, но и из форменных элементов крови и эндотелия. В процессе первичной и вторичной агрегации большую роль играют интегриновые рецепторы класса β_3 — гликопротеиновый комплекс IIb—IIIa (GP IIb—IIIa — интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$), рецептор к фибриногену. После воздействия на тромбоцит различных агонистов данный интегрин становится доступным для фибриногена и связывается с ним в присутствии ионов Ca_{2+} . Именно образование фибриногеновых мостиков между тромбоцитами обуславливает первичную агрегацию.

Агрегация индуцируется и первыми малыми количествами тромбоина, генерируемого по внешнему и внутреннему пути коагуляции. В результате в процесс вовлекается все большее количество тромбоцитов, поступающих в зону повреждения. Однако на данной стадии, определяемой как стадия обратимой, или первичной, агрегации, связи между тромбоцитами еще непрочные, часть из них может отрываться током крови. Позже, на стадии необратимой (вторичной) агрегации, тромбоцитарные агрегаты уплотняются вследствие сокращения актомиозиновых филаментов, пересекающих всю цитоплазму тромбоцита. Вследствие этого тромбоцитарные агрегаты становятся непроницаемыми для крови и плотно закрывают дефект в сосудах малого калибра.

Таким образом, эндотелий сосудов и тромбоциты осуществляют тромбоцитарно-сосудистый (первичный) гемостаз. В месте повреждения сосуда развиваются вазоспазм, адгезия и агрегация тромбоцитов и в конечном итоге формируется тромбоцитарная пробка, завершающая эффективный гемостатический процесс в сосудах малого калибра.

Практически одновременно с процессами первичного гемостаза происходит активация *системы свертывания крови*, приводящая к образованию фибрина, который укрепляет первичную тромбоцитарную пробку, связывая в ней тромбоциты и другие клеточные элементы. В результате формируется полноценный тромб, выдерживающий давление крови в сосудах большего калибра. Процесс образования фибрина представляет собой последовательную каскадоподобную взаимную активацию белков-ферментов — *факторов свертывания крови*.

Современная номенклатура плазменных факторов свертывания определяет активированную форму буквой «а» после названия фактора или его порядкового номера, обозначенного римской цифрой. Большинство этих ферментов синтезируется в печени, потом выходит в кровотоки, где и существует в неактивной форме в виде проферментов. При повреждении стенок сосудов кровь за счет поэтапной активации факторов свертывания приобретает повышенный коагуляционный потенциал. Начало активации может происходить по внутреннему и внешнему механизмам, которые, по современным данным, взаимосвязаны и дополняют друг друга. Внешний путь активации начинается с тканевого фактора (ТФ), находящегося в субэндотелиальных структурах и поступающего в кровь извне при нарушении целостности эндотелия. Реакции внутреннего пути свертывания начинаются после активации фактора XII (фактора контактной активации), циркулирующего в крови, при его взаимодействии с коллагеном субэндотелиальных

структур, обнажающихся при повреждении сосудистой стенки. В дальнейшем реакции внутреннего пути происходят в основном на поверхности активированных тромбоцитов.

В настоящее время ряд новых исследований позволил разработать новый подход к интерпретации процесса свертывания крови, что выразилось в создании *клеточной модели* коагуляции, состоящей из трех фаз.

Первая фаза получила название *фазы инициации (initiation)* (рис. 11) свертывания крови. Она проходит на поверхности клеточных мембран субэндотелия сосудистой стенки. При ее повреждении на поверхности субэндотелиальных клеток формируется комплекс из ТФ и активированного фактора VII (VIIa).

В норме доля активной фракции данного белка свертывания крови больше, чем у других факторов, присутствующих в кровотоке в виде проферментов. Комплекс ТФ + фактор VIIa посредством ограниченного протеолиза переводит фактор X в активную форму (Xa), которая, в свою очередь, при участии фактора Va, фосфолипидов клеточных мембран и ионов кальция (протромбиназный комплекс) активирует протромбин (II), переводя его в тромбин (IIa), посредством которого от молекулы фибриногена (I) отщепляются белковые фрагменты А и В,

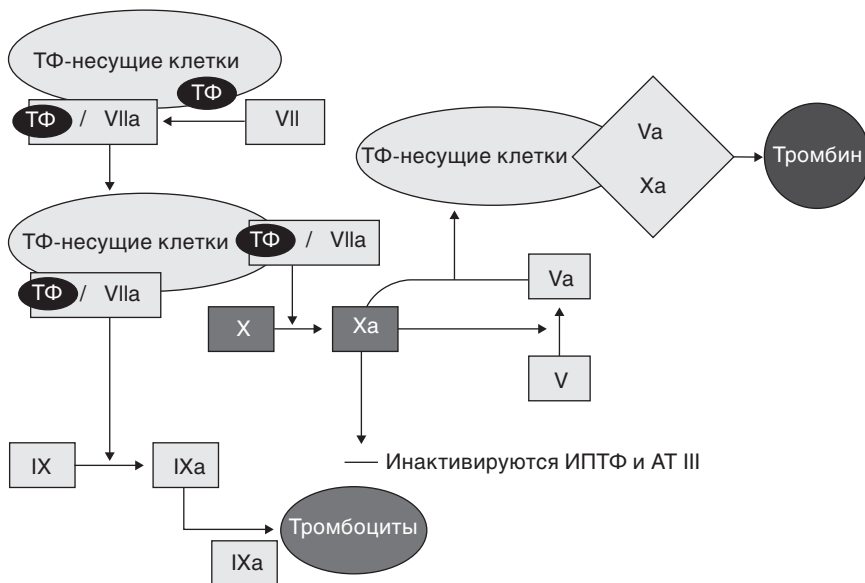


Рис. 11. Фаза инициации в клеточной модели свертывания крови (по Вавиловой Т.В., 2005)

после чего фибриноген приобретает способность к спонтанной полимеризации в фибрин. Таким образом, на данном этапе формируется «затравочное» количество активного тромбина, который способен быстро активировать процесс свертывания крови в месте повреждения сосуда, но для полной остановки кровотечения этого оказывается недостаточно. Процесс усиливается на втором этапе, получившем название *амплификации* (от англ. *amplification* — усиление) (рис. 12).

Амплификация происходит на поверхности тромбоцитов. Образовавшийся в ходе инициации тромбин активирует сами тромбоциты, а также факторы свертывания VIII, IX и V, переводя их в VIIIa, IXa и Va. Кроме того, в месте повреждения сосуда за счет контактной активации при участии калликреина и высокомолекулярного кининогена активируется фактор XIIa, преобразующий фактор XI в XIa, который, в свою очередь, дополняет количество активного фактора IXa. Таким образом, на поверхности множества тромбоцитов происходит образование так называемого теназного комплекса, в свою очередь также активирующего фермент Xa, который с фактором Va, фосфолипидами мембран тромбоцитов и ионами кальция формирует протромбиназный комплекс, значительно усиливая коагуляционный потенциал крови.

На третьем, заключительном этапе (*фаза распространения*) процесс свертывания крови распространяется (рис. 13). На поверхности

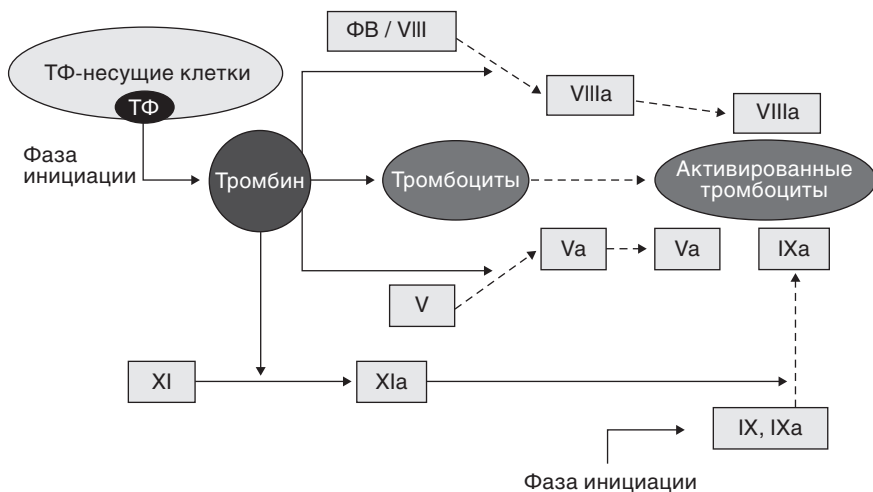


Рис. 12. Фаза амплификации в клеточной модели свертывания крови (по Вавиловой Т.В., 2005)

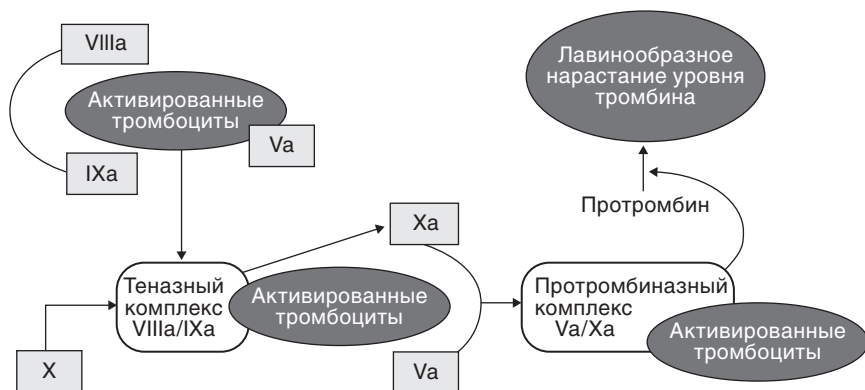


Рис. 13. Фаза распространения в клеточной модели свертывания крови (по Вавиловой Т.В., 2005)

активированных тромбоцитов продолжают фиксироваться, активироваться и переноситься к месту повреждения факторы XI, IX, X, VIII, V, II. Образующийся в результате их взаимодействия протромбиназный комплекс инициирует переход протромбина в большое количество тромбина. Тромбин расщепляет фибриноген и способствует его полимеризации с образованием фибрина, структура которого уплотняется под действием фибринстабилизирующего фактора XIIIa, что приводит к образованию нерастворимого фибрина и формированию гемостатически эффективного сгустка.

Для предотвращения чрезмерного тромбообразования в организме существует *противосвертывающая (антикоагулянтная) система*, также представленная совокупностью белков-ферментов, которые взаимодействуют с факторами свертывания крови, уменьшая их активность. Важнейшими физиологическими ингибиторами являются антитромбин III (АТ III), система протеинов С и S, гепариновый кофактор II, TFPI, α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин.

Антитромбин III (АТ III) — главный физиологический ингибитор тромбина (IIa) и некоторых других белков свертывания крови (IXa, Xa, XIIa, XIa). Антикоагулянтная активность плазмы на 80% определяется антитромбином III. В результате взаимодействия тромбина с АТ III образуются их неактивные комплексы (ТАТ), которые удаляются клетками печени из кровотока, а также являются маркерами усиленного образования тромбина. Физиологическим активатором АТ III является гепарин,

повышающий активность АТ III до 100 000 раз. Важно отметить, что гепарин сам практически не влияет на свертывание крови. Комплексы АТ III с гепарином быстро реализуют свою антикоагулянтную активность.

Гепариновый кофактор II способен специфически инактивировать тромбин в области повреждения эндотелия, участвует в репарации поврежденных тканей и регуляции воспаления. Данный кофактор имеет значение и для поддержания функциональной активности клеток нервной системы. Следует помнить, что применение непрямых антикоагулянтов может повышать активность гепаринового кофактора II.

Протеины С в содружестве с протеинами S, Z инактивируют факторы Va и VIIIa. Протеин С наряду с белками S, Z синтезируется в печени при участии витамина К и циркулирует в кровотоке в неактивном состоянии. В активации протеина С участвуют белки S и Z, ионы кальция, фосфолипиды мембран клеток и главным образом тромбомодулин (ТМ), экспрессирующийся на поверхности эндотелиоцитов после взаимодействия их с тромбином. Кроме того, протеин С может нейтрализовать ингибитор активатора плазминогена (РАI-1), тем самым повышая лизис фибринового сгустка, а также обладает выраженным противовоспалительным действием за счет блокады выработки ряда цитокинов. Тромбомодулин — трансмембранный белок эндотелиоцитов, и он может расцениваться как маркер повреждения сосудистой стенки и клинически ассоциируется с тромбозами.

Большое значение для предотвращения чрезмерного образования тромбина на этапе инициации имеет *ингибитор пути тканевого фактора* (TFPI), способный ингибировать комплекс ТФ, а также факторы VIIa, IXa и Xa.

Инактивировать тромбин может и α_1 -*антитрипсин* (α_1 -ингибитор протеаз). Он является белком острой фазы, а также участвует в регуляции фибринолиза.

Большой спектр ферментов системы коагуляции, в том числе комплекс ТФ + VIIa, тромбин, плазмин, калликреин, инактивирует α_2 -*макроглобулин*. Этот белок также повышается в крови при остром воспалении.

Для разрушения уже сформировавшихся тромбов в сосудах и для предотвращения ишемии, некроза тканей существует еще одна белково-ферментная система — *фибринолитическая*. Ее основной компонент — *плазмин*, способный разрушать молекулярную структуру фибрина в составе тромба, а при чрезмерной активации фибринолиза и фибриногена с образованием *продуктов деградации фибрина/фибриногена* (ПДФ) —

белковых фрагментов различной молекулярной массы, наиболее мелкими из которых являются *D-димеры*. Повышенное содержание в плазме D-димера свидетельствует о глобальной активации системы гемостаза, поскольку он отражает как образование фибрина в исследуемой крови, так и его лизис. Следует отметить, что ПДФ обладают антитромбиновым эффектом, препятствуют полимеризации фибрин-мономеров и угнетают активность тромбоцитов.

Плазмин также разрушает фибрин-мономерные комплексы, ряд факторов свертывания (V, VIII, X, IX, vWF) и тромбоцитарных факторов. Кроме того, компоненты фибринолитической системы участвуют в репарации тканей сосудистой стенки. Плазмин образуется в результате активации его профермента — *плазминогена*. Естественными активаторами этого процесса являются *тканевый активатор плазминогена* (t-PA), а также XIIa, XIa, *прекалликреин*, *высокомолекулярный кининоген*. Существуют также ингибиторы активаторов плазминогена (PAI-1, PAI-2, PAI-3) и ингибиторы самого плазмина (α_2 -антиплазмин, α_2 -m, α_1 -PI), которые препятствуют развитию кровотоочивости в результате фибринолиза. Иницируют синтез и высвобождение PAI-1 интерлейкин-1, тромбин, фактор роста фибробластов, ангиотензин-2, дексаметазон, липопротеин (a), ЛПНП, инсулин. Высвобождение PAI-1 в избыточном количестве приводит к повышенному риску повреждения сосудистой стенки и развития тромботических осложнений. Подавляют экспрессию PAI-1 активированный протеин C и гепарин в сочетании с эндотелиальным фактором роста.

Таким образом, поддержание баланса тромбообразующих и препятствующих тромбообразованию систем организма обеспечивает поддержание внутренней среды организма.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опрос пациента

Жалобы

Довольно часто больные с заболеваниями системы крови предъявляют неспецифические жалобы, носящие общий характер: повышенная утомляемость, общая слабость, головная боль и головокружение, колющие боли в области сердца и учащенное сердцебиение,

абдоминальные боли, лихорадка и похудание. Однако выделяют ряд жалоб, которые характерны только для определенных патологических состояний.

Жалобы, характерные для анемического синдрома, на повышенную утомляемость, общую слабость, головокружение, учащенное сердцебиение, одышку при физической нагрузке, обмороки, снижение трудоспособности сочетаются с бледностью кожного покрова и видимых слизистых оболочек. Они связаны с гипоксией органов и тканей вследствие недостаточного содержания в крови эритроцитов и гемоглобина.

Один из частых симптомов при заболеваниях крови — лихорадка. Она может быть невысокой, субфебрильной и носить затяжной характер, а также фебрильной, высокой, волнообразной и сопровождаться профузным потоотделением, похуданием, общей слабостью. Лихорадка при анемиях связана с компенсаторным увеличением основного обмена, а при гемолитических анемиях, кроме того, — и с пирогенным действием продуктов распада эритроцитов. Лихорадка при лейкозах обусловлена распадом неполноценных лейкоцитов и высвобождением при этом пирогенных веществ, а также снижением иммунитета и склонностью к воспалительным заболеваниям. Повышение температуры тела при выраженном геморрагическом синдроме можно рассматривать как резорбционную лихорадку. Одним из проявлений гематологических заболеваний может быть похудание, вплоть до кахексии.

Наряду с неспецифическими, больные могут предъявлять жалобы, более или менее характерные для определенной гематологической патологии. Так, при железодефицитной анемии развивается сидеропенический синдром: изменение, извращение вкуса и обоняния (потребность употреблять в пищу мел, глину, сырую крупу, сырой фарш, вдыхать пары бензина, лака), а также появляются ломкость ногтей и волос, трещины в углах рта. При B_{12} - и фолиеводефицитной анемии больные жалуются на чувство онемения, повышенную зябкость, ощущение покалывания, ползания мурашек в пальцах рук и ног (парестезии). Нестерпимый кожный зуд — жалоба, характерная для лимфогранулематоза, эритремии. Упорные боли в костях встречаются при острых и хронических лейкозах. Они объясняются усиленной пролиферацией клеток костного мозга и его гиперплазией. Геморрагические высыпания на коже и слизистых оболочках, кровотечения из носа, желудочно-кишечного тракта, матки и других органов характерны для геморрагических болезней, апластической анемии, лейкозов.

При многих заболеваниях крови, особенно при хроническом миелолейкозе, возникают боли в левом подреберье. Они обусловлены вовлечением в патологический процесс селезенки. При образовании пигментных камней в желчном пузыре или в протоках у больных с гемолитической анемией могут быть коликообразные боли в области правого подреберья. Острый приступ подагры с гиперурикемией может быть осложнением одного из миелопролиферативных заболеваний: хронического миелолейкоза, эритремии, хронического лимфолейкоза, острых лейкозов с высоким лейкоцитозом в периферической крови.

Анамнез заболевания

Проявления гематологических заболеваний нередко бывают неспецифическими, в связи с чем трудно установить начало заболевания и особенности его течения. Именно поэтому данный раздел включает максимально полное описание и оценку симптомов болезни. Врач должен стремиться к детальному выяснению состояния, которое предшествовало болезни, причин, способствующих ее развитию. При этом важно проследить динамику болезненного процесса, выявить возможные результаты проводившихся обследований и лечения больного. Большое значение имеет выяснение лекарственного анамнеза и контакта с различными химическими веществами.

Перенесенные заболевания, травмы и операции

Много ценных сведений для выяснения этиологии болезни может дать расспрос пациента о перенесенных им ранее заболеваниях. Например, причинами развития анемии могут быть кровотечения, явные или скрытые, при раке, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, туберкулезе и др. Большое значение при расспросе имеют указания в анамнезе на заболевания печени, которые часто сопровождаются геморрагическим синдромом. Спленэктомия, проведенная вследствие травмы, может быть причиной тромбоцитоза и тромбозов. Оперативные вмешательства, такие как гастрэктомия, резекция тонкой и толстой кишки, нарушают процессы всасывания железа, витамина В₁₂, фолиевой кислоты. Меноррагии и метроррагии могут свидетельствовать о патологии гемостаза, эндокринной системы и стать причиной развития железодефицитной анемии. Длительный и бесконтрольный прием многих лекарственных препаратов (НПВС —

нестероидные противовоспалительные средства, цитостатики) способствует развитию анемии, геморрагического синдрома, агранулоцитоза.

Семейный анамнез и данные о наследственности

Некоторые болезни системы крови относятся к наследственно-конституциональным и могут передаваться по аутосомно-доминантному, аутосомно-рецессивному типу или быть сцепленными с полом (гемофилия, ангиогемофилия, наследственная геморрагическая телеангиэктазия и др.). Детальное выяснение состояния здоровья и причины смерти ближайших родственников существенно помогает в диагностике заболеваний.

Анамнез жизни

Определенное диагностическое значение имеет расспрос больного об условиях его жизни (частота и сила воздействия солнечного света, питание, содержание витаминов в пище), труда (действие промышленных ядов — свинца, мышьяка, бензола; работа с радиоактивными препаратами). При несоблюдении техники безопасности под влиянием вредных веществ могут развиваться анемия, тромбоцитопения, лейкоцитопения.

Многолетнее употребление алкоголя может привести к фолиево-дефицитной анемии, тромбоцитопении. Злоупотребление курением влечет развитие вторичного эритроцитоза.

У лиц, посетивших зарубежные страны, необходимо уточнить наличие в них эндемичных районов. Некоторые тропические инфекции могут провоцировать заболевания крови (например, малярия, вызывающая гемолитическую анемию).

Необходимо выяснить этническую принадлежность больного и место его географического проживания. Это помогает в диагностике серповидноклеточной анемии, талассемии, наследственных эритроцитозов, периодической болезни.

При контакте с домашними животными (птицы, собаки, кошки) могут возникнуть гематологические симптомы ряда заболеваний, передаваемых ими: токсоплазмоз, болезнь кошачьей царапины.

Физические методы исследования

Осмотр

При осмотре гематологических больных необходимо обращать внимание на их состояние, положение, сознание. Удовлетворительное состояние отмечается при умеренной степени железодефицитной анемии, тяжелое или крайне тяжелое, бессознательное — в терминальной стадии таких заболеваний крови, как лейкозы, апластическая анемия.

При осмотре кожи и видимых слизистых оболочек обращают внимание на их окраску. При анемиях они бледные, с различными оттенками в зависимости от этиологии. Железодефицитная анемия характеризуется восковидной бледностью с зеленоватым оттенком, гемолитическая анемия проявляется умеренной бледностью с желтушным оттенком, а B_{12} -дефицитная — бледностью со светлым лимонно-желтым оттенком кожи. Бледность кожного покрова может маскироваться загаром или врожденной смуглостью, поэтому доказательными признаками анемизации являются бледность слизистых оболочек и побледнение конъюнктивы.

Для эритремии, в отличие от анемии, характерен вишнево-красный цвет кожного покрова, особенно выраженный на лице, шее и кистях рук.

Акроцианоз (синюшность кончика носа, мочек ушей, пальцев) может наблюдаться при симптомах криоглобулинемии, а также при развитии тяжелой сердечно-сосудистой недостаточности с содержанием гемоглобина <50 г/л.

Часто при гематологических заболеваниях на коже и слизистых оболочках появляются кровоизлияния. Существенно облегчает диагностический поиск установление во время обследования типа и тяжести кровоточивости. Различают пять типов кровоточивости (по Баркагану З.С.).

1. *Гематомный* — с болезненными, напряженными кровоизлияниями в мягкие ткани, суставы. Имеется выраженная патология опорно-двигательного аппарата. Типичен для гемофилии А и В.

2. *Петехиально-пятнистый* (синячковый) — характерен для тромбоцитопений, тромбоцитопатий и некоторых нарушений свертываемости крови (крайне редких): гипо- и дисфибриногенемий, наследственного дефицита факторов X и II, иногда VII.

3. *Смешанный* (синячково-гематомный) — характеризуется сочетанием петехиально-пятнистой кровоточивости с появлением

отдельных больших гематом (забрюшинных, в стенке кишечника и др.). При этом отсутствует поражение суставов и костей (в отличие от гематомного типа). Кровоизлияния могут быть обширными и болезненными. Такой тип кровоточивости наблюдается при тяжелом дефиците факторов протромбинового комплекса и фактора XIII, болезни Виллебранда, ДВС-синдроме, передозировке антикоагулянтами и тромболитиками, появлении в крови иммунных ингибиторов факторов VIII, IX.

4. *Васкулитно-пурпурный* — характеризуется геморрагиями в виде сыпи или эритемы воспалительного характера; наблюдается при инфекционных и иммунных васкулитах.

5. *Ангиоматозный* — наблюдается при телеангиэктазиях, ангиомах, артериовенозных шунтах. Характеризуется упорными, строго локализованными и привязанными к локальной сосудистой патологии геморрагиями.

Следы расчесов на коже могут встречаться при лимфогранулематозе, эритремии.

Изменение кожного покрова при острых лейкозах может проявляться в виде специфических лейкоэмических инфильтратов, приподнимающихся над поверхностью кожи (лейкемиды). Цвет их может быть розовым или светло-коричневым.

При лейкозах, агранулоцитозе присоединяется вторичная инфекция в виде фурункулеза и пиодермии.

При анемиях, чаще всего железодефицитной, изменяются придатки кожи (волосы, ногти). Волосы становятся ломкими, секутся, выпадают; ногти теряют блеск, становятся ложкообразными (койлонихии), бывают мягкими и вогнутыми, с поперечной исчерченностью.

Нарушения лицевого скелета в виде выпуклости лобной и теменной костей наблюдаются при серповидноклеточной анемии и талассемии, анемии Фанкони, наследственном микросфероцитозе.

При многих анемиях слизистая оболочка полости рта бледная, а для V_{12} -дефицитной анемии, кроме того, характерна атрофия сосочков языка (гунтеровский глоссит). Осмотр зева при остром лейкозе позволяет выявить некротическую ангину с неприятным запахом — язвенно-некротический синдром. Для лейкозов характерны также наличие стоматита, кровоточивость десен.

Видимое увеличение лимфатических узлов может быть обусловлено рядом гематологических болезней (лейкозы, лимфомы).

Асимметричное выбухание в левом подреберье, связанное с увеличением селезенки, может наблюдаться при хронических лимфо- и миелопролиферативных заболеваниях.

Пальпация

При лейкозах и некоторых видах анемий наблюдаются значительные метаплазия и гиперплазия костного мозга с инфильтрацией надкостницы костномозговой тканью. В этих случаях при поколачивании и надавливании в области грудины, других плоских костей, а иногда и в области трубчатых костей удается выявить болезненность.

Большое значение при диагностике заболеваний крови имеет пальпация лимфатических узлов. При этом следует обращать внимание на их величину, консистенцию, болезненность, подвижность, цвет кожного покрова над ними. Генерализованное увеличение лимфатических узлов характерно для хронического лимфолейкоза и лимфом, но возможно и при метастазах рака, туберкулезе, инфекционном мононуклеозе и др. В каждом случае обнаружения увеличенных лимфатических узлов необходимо проводить дифференциальную диагностику. Так, лимфатические узлы при туберкулезе плотные, спаянные с кожей, болезненные, часто образуют свищи; при хроническом лимфолейкозе они мягкие, безболезненные, легко смещаемые, не спаянные с окружающими тканями; при лимфогранулематозе они плотные и спаянные между собой, безболезненные, кожа над ними не изменяется.

Пальпацию селезенки проводят в положении больного на спине и на правом боку. Левая нога должна быть выпрямлена, правая — согнута в коленном и тазобедренном суставах. Врач левой рукой фиксирует левую половину грудной клетки в нижней трети, правой проводит глубокую, скользящую пальпацию в перпендикулярном направлении к левому подреберью синхронно с дыханием. В норме селезенка не пальпируется. Увеличенная селезенка (спленомегалия) при глубоком вдохе опускается в левое подреберье, ее поверхность становится доступной для прощупывания, определения консистенции и болезненности, хорошо пальпируется характерная вырезка.

Следует помнить, что в левом подреберье можно пропальпировать патологически измененную почку, которую отличают по отсутствию вырезки.

Увеличение селезенки может быть обнаружено при различных гематологических и инфекционных заболеваниях, поражениях печени. Среди заболеваний крови следует назвать в первую очередь хронический миелолейкоз и первичный миелофиброз, при которых селезенка достигает значительных размеров, может занимать всю левую половину живота, а нижний ее край находится в малом тазу. Увеличивается она и при инфекционных заболеваниях, прежде всего сепсисе, циррозе печени, сдавлении или тромбозе селезеночной вены. При большинстве заболеваний пальпация селезенки безболезненна. Болезненность наблюдается при инфаркте селезенки, перисплените, тромбозе селезеночной вены. Поверхность, как правило, гладкая, край ровный.

Увеличение и болезненность печени при пальпации могут наблюдаться при инфекционных, аутоиммунных, хронических миело- и лимфопролиферативных заболеваниях, острых лейкозах.

Аускультация

При аускультации над селезенкой иногда выслушивается шум трения брюшины, не имеющий какого-либо особого дифференциально-диагностического значения. Тем не менее шум трения брюшины — типичный симптом инфаркта селезенки, периспленита.

Лабораторные методы исследования

Клинический анализ периферической крови

Общий клинический анализ крови — одно из самых распространенных лабораторных исследований, позволяющее качественно и количественно оценить состав крови. Этот анализ включает обычно подсчет количества эритроцитов, исследование концентрации гемоглобина, подсчет количества тромбоцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, исследование лейкоцитарной формулы, определение скорости оседания эритроцитов, оценку морфологии эритроцитов. Результаты клинического лабораторного исследования крови оформляют на бланке «Анализ крови», где указываются различные показатели, сравниваемые с референтными. Современные компьютерные технологии позволяют в течение нескольких минут выполнить не только традиционный анализ крови, но и оценить ее в целом с помощью интегрального показателя. Другими словами, в дополнение к диагнозу больного врач может добавить степень расстройства системы крови, т.е. поставить еще и диагноз

самой крови. Так, в проведенных нами исследованиях больных пневмонией (с применением дискриминантного анализа Фишера с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и SPSS 11.0) этот показатель крови позволил оценить степень тяжести воспаления. Предложенный нами комплексный подход позволяет по-новому оценить состояние крови здорового человека и больного: к традиционному анализу крови и костного мозга добавить синтез их показателей. Полагаем, что в будущем этот метод позволит определять не только тяжесть пневмонии, но и других заболеваний воспалительной и невоспалительной природы для оценки состояния больного.

Гематологическая норма является статистическим показателем и отражает среднюю величину, наблюдаемую в популяции здоровых людей. На состав крови влияют пол и возраст пациента (табл. 1).

Таблица 1. Нормальные показатели периферической крови у взрослого человека

Показатель	Значение	
	муж.	жен.
Гемоглобин	130–160 г/л	120–145 г/л
Гематокрит	0,40–0,50	0,36–0,44
Количество эритроцитов (RCC)	$(4,0–5,5) \times 10^{12}/л$	$(3,8–4,5) \times 10^{12}/л$
Средний объем эритроцита (MCV)	81–95 фл	
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	27–32 пг	
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC)	32–36 г/100 мл	
Количество лейкоцитов (WBC)	$(4–9) \times 10^9/л$	
Нейтрофилы	$(2,0–6,5) \times 10^9/л$, или 50–70%	
Лимфоциты	$(1,5–3,6) \times 10^9/л$, или 18–38%	
Эозинофилы	$(0,1–0,4) \times 10^9/л$, или 0–5%	
Базофилы	$(0,0–0,1) \times 10^9/л$, или 0–1%	
Моноциты	$(0,2–0,8) \times 10^9/л$, или 2–10%	
Тромбоциты	$(160–320) \times 10^9/л$	
Ретикулоциты	0,2–1%	
СОЭ	2–10 мм/ч	2–15 мм/ч

Определение содержания гемоглобина производится с помощью счетчика или автоматизированного анализатора. Наиболее точным считается унифицированный метод, основанный на колориметрии производных гемоглобина. Гемоглобин определяет основную функцию эритроцитов, от его содержания зависит окраска этих форменных элементов крови.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ). При отстаивании крови, не свертывающейся вследствие добавления антикоагулянтов, происходит оседание эритроцитов. Норма СОЭ: 2–10 мм/ч у мужчин, 2–15 мм/ч у женщин. Повышение СОЭ — высокочувствительный неспецифический показатель, свидетельствующий о наличии воспалительного процесса. При пониженном количестве эритроцитов в крови СОЭ возрастает независимо от природы анемии. Снижение СОЭ наблюдается при эритроцитозах различной этиологии. Реакция ускоряется у женщин во время беременности, при голодании. В основе увеличения СОЭ лежат изменения в концентрации различных белков плазмы, связанные со сменой их электрического заряда, но могут играть роль и другие факторы: размеры и форма кровяных телец, изменения в липидном составе плазмы и др.

Осмотическая резистентность эритроцитов. В норме начало гемолиза отмечается в 0,45–0,5% растворе хлорида натрия, полный гемолиз — в 0,35–0,4% растворе. Снижение осмотической резистентности эритроцитов характерно для наследственной сфероцитарной гемолитической анемии, аутоиммунной гемолитической анемии и некоторых форм наследственных немикросфероцитарных анемий. При талассемии и гемоглобинопатиях резистентность эритроцитов повышена. Гемолиз могут вызывать и другие факторы — химические, термические и биологические.

Пункционная диагностика

Морфологический состав периферической крови не всегда отражает изменения, возникающие в кроветворных органах. С целью верификации диагноза, качественной и количественной оценки костномозгового кроветворения больным проводят цитологическое и гистологическое исследование костного мозга.

Обычно практикуется стерильная пункция, предложенная в 1928 г. М.А. Аринкиным. После анестезии кожи, подкожной клетчатки и надкостницы иглой Кассирского (специальная игла со щитком) прокалывают наружную пластинку грудины и забирают небольшое количество костного мозга для цитологического анализа.

Для гистологического исследования, оценки тканевого соотношения в костном мозге, выявления гипоплазии, гиперплазии тех или иных клеточных линий проводят трепанобиопсию. Трепан вводят в гребешок подвздошной кости и вырезают ее столбик с костномозговой тканью.

Миелограмма — процентное соотношение клеточных элементов, подсчитанных в мазках, приготовленных из пунктатов костного мозга. Средние показатели представлены в табл. 2.

Таблица 2. Клеточный состав костного мозга в норме

Показатель миелограммы	Среднее значение, %	Пределы нормальных колебаний, %
Ретикулярные клетки	0,9	0,1–1,6
Бласты	0,6	0,1–1,1
Миелобласты	1	0,2–1,7
Нейтрофильные клетки, все	60,8	52,7–68,9
Промиелоциты	2,5	1–4,1
Миелоциты	9,6	7–12,2
Метамиелоциты	11,5	8–15
Палочкоядерные	18,2	12,8–23,7
Сегментоядерные	18,6	13,1–24,1
Эозинофилы	3,2	0,5–5,8
Базофилы	0,2	0–0,5
Эритробласты	0,6	0,2–1,1
Пронормоциты	0,6	0,1–1,2
Нормоциты:		
базофильные	3	1,4–4,6
полихроматофильные	12,9	8,9–16,9
оксифильные	3,2	0,8–5,6
Все эритроидные элементы	20,5	14,5–26,5
Лимфоциты	9	4,3–13,7
Моноциты	1,9	0,7–3,1
Плазматические клетки	0,9	0,1–1,8
Количество мегакариоцитов (клеток) в 1 мкл, шт.	—	50–150
Количество миелокариоцитов в 1 мкл, тыс.	118,4	41,6–195
Лейкоэритробластическое отношение	3,3	2,1–4,5
Индекс созревания нейтрофилов	0,7	0,5–0,9

При увеличении лимфатических узлов, селезенки очень большое значение имеет их пункция с последующим цитологическим исследованием. Пункция лимфатического узла помогает уточнить диагноз при таких заболеваниях, как гемобластозы, метастазы рака, туберкулез, саркоидоз и др.

Биопсию лимфатического узла проводят хирурги с соблюдением правил операционной техники. Для большей информативности узел разрезают и готовят отпечатки для цитологического исследования. В гистологическую лабораторию направляют всю ткань удаленного лимфатического узла. Биопсия имеет большое значение для определения гистологического типа лимфопролиферативных заболеваний. Цитологическое исследование пунктата селезенки важно для диагностики лимфогранулематоза, лимфом.

Дополнительные методы исследования крови и мочи

Стандартный метод изучения белков плазмы — электрофорез на бумаге, агаровом геле или на ацетат-целлюлозной пленке. При лимфопролиферативных заболеваниях (множественная миелома, болезнь Вальденстрема, секретирующие В-клеточные лимфомы) он помогает выявлять аномальные белки (парапротеины). При электрофорезе плазмы крови парапротеин выявляется в виде узкой зоны (М-градиент) в области γ - или β -фракций. Парапротеины, обнаруживаемые в моче, обозначают терминами «белок Бенс-Джонса», или «уропротеин».

В последние годы традиционные методы изучения иммунной системы (определение состояния, клеточного и гуморального иммунитета, фагоцитоза, уровня иммуноглобулинов, системы комплемента) обогатились целым рядом новых исследований. Благодаря разработке метода обнаружения маркеров зрелости с помощью моноклональных антител появилась возможность иммуноморфологического определения стадий зрелости, субпопуляционного состава и тканевой организации иммунокомпетентных клеток.

Обнаружение моноклональных антител, связавшихся с антигенами клеток, при микроскопическом изучении материала (мазки костного мозга, крови, отпечатки биопсированных органов) производится иммунофлюоресцентным методом, а при использовании суспензии клеток применяется иммуноцитофлуометрия в проточном цитометре.

Для выявления состояний, связанных с количественными и качественными изменениями иммуноглобулинов, используют иммунохимические методы, основанные на специфическом взаимодействии

растворимого или дисперсного антигена и антител (иммунофиксированный электрофорез, радиальная иммунодиффузия, иммуноферментный анализ и др.).

Современные гистохимические и морфологические методы исследования, широко используемые в гематологии, позволяют установить принадлежность клеточных элементов крови и костного мозга к тому или иному кроветворному ряду. Основой для гистохимической идентификации служат особенности метаболических процессов, специфичных для каждого типа клеток (например, определение пероксидазы при миелопролиферативных заболеваниях, эстеразы при миеломонобластном лейкозе и др.).

С открытием структуры ДНК в середине XX в. возникла новая наука — молекулярная биология, стали внедряться цитогенетические методы исследования.

Клональное происхождение лейкозов и лимфатических опухолей четко прослеживается при изучении их кариотипа. В клетках многих изученных новообразований выявлены специфические для данного типа опухолей хромосомные изменения. Их стало возможно выявлять методами полимеразной цепной реакции и флюоресцентной гибридизации *in situ*.

Радионуклидные методы

Использование радионуклидных методов исследования в клинической гематологии позволяет путем метки форменных элементов крови короткоживущими радионуклидами измерять массу циркулирующих эритроцитов, определять продолжительность жизни эритроцитов и тромбоцитов, прогнозировать лечебный эффект спленэктомии при гемолитических анемиях.

В диагностике заболеваний крови активно применяются такие методы, как функционально-топографическое исследование костного мозга, гамма-сцинтиграфия печени и селезенки, лимфосцинтиграфия.

Лучевая диагностика

Рентгенологические методы исследования гематологических больных дают важную информацию о поражениях легких, средостения, лимфатических узлов. Так, при лимфопролиферативных заболеваниях можно обнаружить расширение тени средостения за счет увеличенных лимфатических узлов, лейкоэмические инфильтраты в виде округлых множественных теней. При множественной миеломе наблюдаются очаги деструкции с остеолитом в костях черепа (лейкемические), позвоночника.

Внедрение в практику компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) расширило возможности лучевой диагностики в гематологии. Стало возможным выявлять не только увеличенные лимфатические узлы, печень и селезенку, но и их состояние, структуру. При ряде заболеваний (миелома, лимфома) КТ и МРТ костного мозга являются точными методами определения распространенности и динамики поражения.

Методы исследования гемостаза

Правила подготовки исследований на гемостаз (преданалитический этап) (Меньшиков В.В., 2000; Момот А.П., 2006; Баркаган З.С., Момот А.П., 2008)

1. Материал для коагулологических исследований — натошак после 15-минутного отдыха у пациента берется венозная кровь.

2. Правила забора крови:

а) пункция вены проводится без наложения жгута (иногда допускается создание венозного стаза не более чем на 1 мин);

б) кровь должна вытекать самотеком [использование шприца недопустимо, а игла для пункции должна иметь небольшую длину (<5 см) и широкий просвет (диаметр 1,2 мм)];

в) первые 1,5–2 мл крови, насыщенные тканевым тромбопластином, не используются для исследования гемостаза;

г) для предотвращения адгезии тромбоцитов и контактной активации обязательно использование силиконированной (или пластиковой) посуды (пипетки, пробирки) и инструментария (пункционных игл).

3. Использование крови из венозного катетера для диагностики нарушений гемостаза нежелательно. Лишь при невозможности пункции периферической вены кровь из катетера можно получить, предварительно промыв его физиологическим раствором и удалив из него первые 10–15 мл крови для исключения влияния гепарина, используемого для промывки. Кровь из катетера непригодна для контроля антикоагулянтной терапии.

4. Капиллярная кровь может использоваться лишь для скрининговой оценки состояния гемостаза с использованием специальных методов и приборов. Она непригодна для контроля антикоагулянтной терапии.

5. При проведении плановых исследований основные коагулологические тесты должны быть проведены в первые 2 ч после взятия крови, а в экспресс-лаборатории время выдачи результата с учетом обработки пробы должно составлять не более 60 мин.

6. Важен правильный подбор антикоагулянта, в качестве которого для исследования гемостаза используется связывающий ионы Са цитрат натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) в концентрации 3,8% (0,11 М) из трехзамещенного 5,5-водного или 3,2% из 2-водного (раствор стабилен при +4 °С 1 нед).

7. Важно соотношение объема цитрата натрия — объем крови с учетом гематокрита. При нормальном гематокрите это 1:9 (чаще 0,5 мл $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ и 4,5 мл крови). При измененном гематокрите соотношение меняется.

Основные принципы методов исследования гемостаза (Момот А.П., 2004, 2006)

1. Клоттинговые — определение клоттингового времени или времени образования сгустка по конечной точке (трансформация фибриногена в фибрин). Данные тесты позволяют чаще всего определить эффективность целой фазы каскада.

2. Хромогенные — фотометрическое определение активности по расщеплению хромогенных субстратов (конечная точка — развитие окрашивания):

- а) двухточечное измерение;
- б) кинетическое измерение (определяется поглощение по нарастающему окрашиванию во времени).

Клоттинговые и хромогенные тесты используются для выполнения скрининга, определения активности отдельных факторов свертывания и ингибиторов.

3. Иммунологические — радиальная иммунодиффузия; электроиммунодиффузия; латексная агглютинация; нефелометрия и турбидиметрия; иммуноферментный анализ; радиоимунный анализ. Эти методы используются для определения концентрации веществ.

4. Методы молекулярной биологии [пример: полимеразная цепная реакция — применяют для выявления наследственной патологии гемостаза (гемофилии А и В, болезни Виллебранда, наследственных тромботических нарушений в виде дефицита антитромбина III, протеинов С и S, фактора XII, фактора Лейдена)]. Эти исследования имеют значение и в пренатальной диагностике, где используются клетки амниотической жидкости и ворсин хориона. В данном случае исследования можно проводить в 8–10 нед беременности.

5. Сухая химия.
6. Преципитация.
7. Растворение сгустка.
8. Агглютинация эритроцитов и др.

Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза

Для комплексной оценки состояния сосудисто-тромбоцитарного (первичного) гемостаза традиционно используется определение времени кровотечения (по Дьюку, Айви, Борхгревинку—Ваалеру), хотя данный метод не позволяет применить более дифференцированный подход в диагностике локализации и характера нарушений системы гемостаза. Современный подход заключается в оценке сосудистого и тромбоцитарного компонентов первичного гемостаза.

Методы изучения микроциркуляции (Бранько В.В., Богданова Э.А., 1999; Маколкин В.И., 2004; Carpenter P.-H., 1999; Becker V.F. и др., 2000; Mohlenkamp L. и др., 2000; Pries A.R., Werner J., 2000)

I. Рутинные методы оценки состояния капиллярной стенки.

1. Методы, позволяющие косвенно оценить прочность капиллярной стенки (пробы жгута, щипка и проба Кончаловского—Румпеля—Леде).

2. Методы, позволяющие косвенно оценить состояние гистогематического барьера (время рассасывания кожного волдыря, пробы Нестерова, Лещинского—Кавецкого, Лэндиса, Макклюра—Олдрича, а также использование веществ, вызывающих отек ткани, например, метод гистаминового волдыря). В настоящее время применение данных методов в клинической практике крайне ограничено.

II. Микроскопические методы.

1. *Капилляроскопия*. Исследование представляет собой метод визуализации микрососудов с применением оптической техники, позволяющий проводить неинвазивную оценку и морфологический анализ состояния поверхности капиллярной сети. Капилляроскопия может быть использована в комбинации с методами анализа скорости кровотока и капиллярного давления для уточнения результатов физиологических и фармакологических проб.

2. *Биомикроскопия сосудов конъюнктивы* глазного яблока. Бульбарная конъюнктура — одно из наиболее доступных мест для исследования микроциркуляции. При оптимальной фокусировке микрососудов осуществляется фоторегистрация интересующих участков конъюнктивы. Динамические параметры системы микроциркуляции оцениваются визуально.

3. *Капилляроскопия окологтевого ложа*. Исследование позволяет визуализировать только функционирующие в данный момент капилляры, так как при данном типе капилляроскопии видна не собственная стенка капилляра, а циркулирующие в нем эритроциты.

4. *Прижизненная кожная капиллярная микроскопия.* Данный метод видео-микроскопии используется для изучения роли нарушений в системе микроциркуляции в патогенезе развития трофических расстройств, связанных с хронической артериальной или венозной недостаточностью.

5. *Количественная капилляроскопия.* Применение капилляроскопии с высоким разрешением и использование компьютерных методов обработки изображения позволяют обобщить результаты исследования и проанализировать размеры, плотность и морфометрические параметры капиллярного русла. Автоматическая капилляроскопическая морфометрия имеет в своей основе комбинацию видеомикроскопии с цифровым анализом изображения; при этом используется не стандартный микроскоп, а миниатюрная контактная камера, встроенная в систему внутреннего освещения, и увеличивающая линза. Камера позволяет проводить исследования ногтевого ложа и кожи.

6. *Офтальмоскопия* — исследование глазного дна, позволяющее косвенно оценить тяжесть микрососудистых расстройств. Используется прямая и непрямая офтальмоскопия, офтальмоскопия с применением щелевой лампы.

7. *Биопсия* подкожной жировой или мышечной ткани с целью изучения состояния микрососудистого русла. Вследствие инвазивности процедуры метод имеет ограниченное применение в клинической практике и используется главным образом в экспериментальных исследованиях.

Методы оценки тканевого кровотока

Полярнографическое исследование объемной скорости кровотока по клиренсу водорода и кислородного режима ткани при проведении функциональных проб (создание реактивной гиперемии и ингаляции кислорода) позволяет выявить латентные нарушения в системе микроциркуляции и проводить объективную оценку эффективности лечебных мероприятий.

Фотоплетизмография. Исследование позволяет рассчитать объемный кровоток по количеству циркулирующего гемоглобина и оксигемоглобина.

Термография — метод, косвенно указывающий на функциональное состояние микроциркуляторного русла.

Томографические радиоизотопные методы регистрируют интенсивность излучения меченых микросфер, отражающую уровень обменных процессов. Преимущество данных методов заключается в том, что они позволяют получить информацию о состоянии обменных процессов и микрогемодинамики в органах.

Лазерная доплерфлоуметрия оценивает общий уровень периферической перфузии, состояние и регуляцию кровотока в микроциркуляторном русле, что особенно важно при дифференцированном подборе медикаментозного лечения. Установлены объективность, точность, хорошая воспроизводимость и высокочувствительность данного метода по отношению к малейшим изменениям кровотока.

К неинвазивным методам оценки микроциркуляции также относятся сцинтиграфия и однофотонная эмиссионная компьютерная томография, позитронно-эмиссионная томография, миокардиальная контрастная эхокардиография, электронно-лучевая томография, МРТ, микрокомпьютерная рентгеновская томография.

Оценка эндотелиальной дисфункции

Наиболее распространенный метод оценки эндотелиальной функции — определение вазодилаторного ответа артерий мышечного типа на введение веществ, стимулирующих высвобождение NO (например, ацетилхолин, брадикинин и субстанция P). Альтернативные методы заключаются в изучении сосудистого ответа на увеличение кровотока. Нарушение эндотелиальной функции характеризуется уменьшением вазодилатации или вазоконстрикцией в результате преобладания эффектов, связанных со стимуляцией мускариновых рецепторов, над стимулированным высвобождением NO. У больных с отсутствием изменений на коронарных ангиограммах, но с наличием одного или нескольких традиционных факторов риска развития атеросклероза наблюдается снижение ответа на введение ацетилхолина и других вазодилаторов. Степень угнетения вазодилаторного ответа коррелирует с количеством факторов риска.

Эндотелийзависимая вазодилатация артерий мышечного типа может быть оценена с помощью ультразвукового исследования. Количественная оценка вазодилаторного ответа лучевой артерии на увеличение напряжения сдвига осуществляется до и после реактивной гиперемии при проведении окклюзионной пробы. Оценка сохранности эндотелийзависимой вазодилатации в микрососудах осуществляется путем определения увеличения кровотока в предплечье после введения стимуляторов высвобождения NO. Как и в коронарном русле, эндотелийзависимая дилатация периферических сосудов заметно снижена у больных с атеросклерозом или с традиционными факторами риска его развития. Для проведения пробы с гиперемией необходимо наличие ультразвукового сканера с линейным датчиком и возможностью получения двумерных и спектральных доплеровских изображений.

Методы изучения тромбоцитарного звена гемостаза (Берковский А.Л. и др., 2002; Момот А.П., 2004)

Определение количества тромбоцитов в крови (микроскопический метод и с помощью счетчиков крови).

В лаборатории исследуют спонтанную агрегацию тромбоцитов и индукционную агрегацию тромбоцитов (качественный экспресс-метод визуальной оценки на предметном стекле по А.С. Шитиковой; качественный пробирочный метод по R.M. Biggs; количественный метод с применением ФЭК по М.А. Howard).

Определение фактора Виллебранда.

Определение ретракции кровяного сгустка.

При исследовании агрегационной функции тромбоцитов индуктор агрегации добавляется к плазме, обогащенной тромбоцитами. На первой стадии происходит изменение формы тромбоцитов (из дискоидной она становится сферической), в это же время на тромбоцитах появляются псевдоподии. В дальнейшем начинается первая фаза агрегации (первичная, или обратимая, агрегация), а затем необратимая агрегация (на агрегатограмме этот процесс представлен двухволновой кривой)(рис. 14).

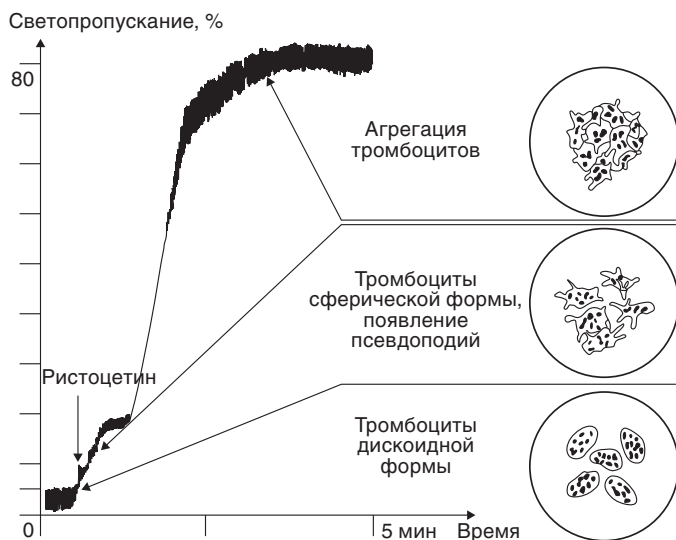


Рис. 14. Ристоцетин-агрегация (Берковский А.Л. и др., 2002)

Для агрегации, стимулированной коллагеном (рис. 15), характерна фаза запаздывания (lag-фаза). В этот период на агрегатограмме пишется слегка отклоняющаяся от оси времени линия и отмечается скрытая активация тромбоцитов.

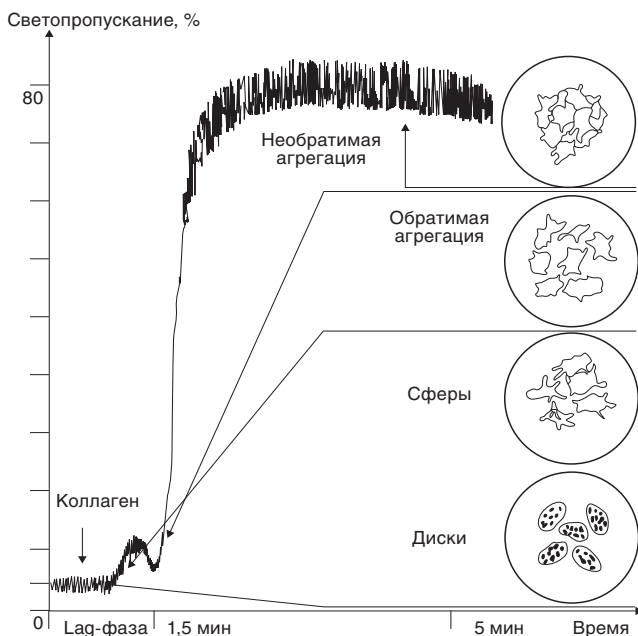


Рис. 15. Коллаген-агрегация (Берковский А.Л. и др., 2002)

Для диагностики большинства наследственных и приобретенных тромбоцитопатий достаточно исследования функциональных параметров тромбоцитов с использованием трех агонистов (коллагена, ристоцетина, АДФ). Нормы агрегации при различных качественных тестах приведены в табл. 3.

Таблица 3. Нормы агрегации при различных качественных тестах

Вид индуктора	Экспресс-метод на предметном стекле, с	Качественный пробирочный метод, с
АДФ	10–15	30–35
Коллаген	10–15	15–20
Ристоцетин	5–10	10–15

Удлинение времени агрегации на 10–20 с относительно нормы указывает на нарушение функций тромбоцитов. Полное отсутствие агрегации тромбоцитов под влиянием АДФ свидетельствует о тромбастении Гланцмана. Полное отсутствие агрегации тромбоцитов под влиянием ристоцетина свидетельствует о синдроме Бернара–Сулье или болезни Виллебранда I или III типа. При болезни Виллебранда нарушение ристоцетин-агрегации устраняется внесением нормальной плазмы донора, содержащей фактор Виллебранда.

Исследования агрегационной активности тромбоцитов проводятся также с использованием аппаратных методов, например с помощью современных лазерных агрегометров, позволяющих получить широкую и наиболее полную информацию о функциональных параметрах тромбоцитов (процент светопропускания, размер агрегатов тромбоцитов, изменение формы тромбоцитов, содержание фактора Виллебранда, количество тромбоцитов и др.). Оцениваемые расчетные параметры — суммирующий индекс агрегации тромбоцитов (СИАТ), который в норме равен для АДФ 50–75%, для коллагена — 50–80%, для ристоцетин-агрегации — 50–80%; скорость агрегации (СА); индекс агрегации тромбоцитов (ИАТ).

Снижение СИАТ наблюдается при качественной неполноценности тромбоцитов врожденного и приобретенного характера, в том числе при ДВС-синдроме. Повышение СИАТ возникает при патологических состояниях, характеризующихся склонностью к тромбообразованию. Оценка результатов анализа при проведении количественных тестов представлена в табл. 4.

Таблица 4. Оценка результатов анализа при проведении количественных тестов

Заболевание	АДФ	Коллаген	Ристоцетин
Дефект рецептора коллагена	Нормальная агрегация	Агрегация отсутствует или снижена	Нормальная агрегация
Синдром Бернара–Сулье	Нормальная агрегация	Нормальная агрегация	Агрегация отсутствует или снижена
Синдром Виллебранда тромбоцитарного типа	Нормальная агрегация	Нормальная агрегация	Агрегация в 1,5–2 раза выше нормы

Окончание табл. 4

Заболевание	АДФ	Коллаген	Ристоцетин
Тромбастения Гланцмана	Агрегация отсутствует	Агрегация отсутствует	Нормальная агрегация
Дефицит пулов хранения	Отсутствует вторая волна агрегации	Агрегация отсутствует или снижена	Нормальная агрегация
Нарушения метаболизма арахидоновой кислоты	Отсутствует вторая волна агрегации	Агрегация отсутствует или снижена	Нормальная агрегация
Другие нарушения активации тромбоцитов	Отсутствует вторая волна агрегации	Агрегация отсутствует или снижена	Нормальная агрегация

Методы исследования коагуляционного гемостаза

В настоящее время медики располагают широким спектром методов исследования свертывающей системы крови, позволяющих осуществлять комплексный подход к диагностике и мониторингу терапии, исследовать как отдельные звенья гемостаза, так и работу этой регуляторной системы в целом.

1. Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АПТВ или АЧТВ).
2. Протромбиновое (тромбопластиновое) время.
3. Тромбиновое время.
4. Определение содержания фибриногена в плазме:
 - а) хронометрический метод (по Клаусу);
 - б) фотометрический метод;
 - в) гравиметрический метод (по Рутбергу Р.А.).
5. Определение времени свертывания крови (по Lee–White)
6. Аутокоагуляционный тест.
7. Каолиновое время свертывания бедной тромбоцитами плазмы крови.
8. Определение активации процесса свертывания плазменными фосфолипидными мембранами.
9. Коагуляционные тесты с гетерогенными коагулазами (с ядами змей — лебетоксовый, эхитоксовый тесты, тест с ядом щитомордника обыкновенного).
10. Определение факторов свертывания.

При обследовании больных можно считать целесообразным выделение двух последовательных этапов диагностики.

Первый этап — первичный скрининг с использованием так называемых глобальных тестов [время кровотечения, количество тромбоцитов в крови, АПТВ, определение протромбинового (ПВ) и тромбинового времени (ТВ) свертывания, оценки уровня фибриногена и растворимого фибрина, выполнение уточняющих определений, позволяющих провести дифференциацию причин в случае обнаружения изменений в этих пробах].

Второй этап может выполняться сразу (минуя первый) при наличии клинических показаний у больного: кровоточивости, рецидивирующих тромбозов, упорного невынашивания беременности и др. После окончания инфузионной терапии выжидают не менее 1 ч до взятия крови на исследование.

В табл. 5 приведены типичные причины патологических отклонений семи глобальных скрининговых проб.

Таблица 5. Основные причины нарушений в скрининговых (глобальных) тестах коагулограммы

Метод	Изменение показателя	Возможная причина
Время кровотечения (норма по Айви — 4–8 мин)	Укорочение	Гиперагрегация тромбоцитов (в том числе при синдроме липких тромбоцитов)
	Удлинение	Тромбоцитопения. Снижение адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов врожденного или приобретенного генеза. Дефицит фактора Виллебранда. Лечение гепарином. Терапия аспирином. ДВС-синдром. Синдром массивных гемотрансфузий на фоне переливаний реополиглобулина, препаратов гидроксизилкрахмала (инфукол, волекам, HES). Уремия. Парпротеинемия, миелопролиферативные и миелодиспластические нарушения. Патология стенки сосудов
Количество тромбоцитов в крови [норма — $(160-320) \times 10^9/\text{л}$]	Снижение	Острый ДВС-синдром. Острый лейкоз и миелодиспластические синдромы. Гипо- и апластические анемии. Нарушение образования в организме тромбоцитина. Химио- и лучевая терапия. Гемолитико-уремический синдром. Спленомегалия и гепатолиенальный синдром. Эклампсия и презклампсия. Экстракорпоральное кровообращение. Гемодиализ у больных хронической почечной недостаточностью, гемосорбция. Интенсивная трансфузионная терапия. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия. Иммунные формы патологии (СКВ и другие заболевания соединительной ткани, антифосфолипидный синдром, иммунная тромбоцитопеническая пурпура). Псевдотромбоцитопения в случае использования в качестве стабилизатора при получении крови ЭДТА

Продолжение табл. 5

Метод	Изменение показателя	Возможная причина
Количество тромбоцитов в крови [норма — (160–320)×10 ⁹ /л]	Повышение	Хронический миелолейкоз (хроническая фаза), первичный миелофиброз, эритремия, эссенциальная тромбоцитемия. Вторичный, реактивный тромбоцитоз в случае спленэктомии (через 1–3 нед), внутриполостные гематомы после оперативных вмешательств, спустя 7–10 дней от начала подострого токсико-инфекционного ДВС-синдрома, после перенесенного острого кровотечения, при злокачественных новообразованиях (предвестник опухоли легкого, поджелудочной железы) и других причинах хронического ДВС-синдрома
АПТВ (норма — около 30–40 с, конкретный диапазон маркируется производителем)	Укорочение	Активация внутреннего механизма свертывания при тромбозах, тромбозмоблиях, ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза). Нормально протекающая беременность (возможно)
	Удлинение	Дефицит факторов внутреннего пути свертывания (VIII — гемофилия А, IX — гемофилия В, XI, XII). Дефицит фактора Виллебранда. Гепаринотерапия обычным, нефракционированным гепарином. ДВС-синдром (потребление факторов свертывания в фазу гипокоагуляции). На фоне переливаний реополиглюкина, препаратов гидроксизтилкрахмала (инфукол, волекам). Наличие волчаночного антикоагулянта. Дефекты при получении крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия, забор крови из гепаринизированного катетера)
Протромбиновое время (норма — 12–16 с, более узкий диапазон маркируется производителем)	Укорочение	Активация внешнего механизма свертывания при различных видах внутрисосудистого свертывания крови. Лечение концентратами факторов протромбинового комплекса (Фейба, НовоСэвен и др.), избыточное содержание VII фактора
	Удлинение	Дефицит или аномалия факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II) в случаях приема непрямых антикоагулянтов. Болезни печени и желчного пузыря (гепатит, цирроз), нарушение эвакуации желчи. ДВС-синдром (потребление факторов свертывания в переходную фазу и фазу гипокоагуляции). На фоне переливаний реополиглюкина, препаратов гидроксизтилкрахмала (инфукол, волекам). Дефекты в процессе получения крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия, забор крови из гепаринизированного катетера)

Метод	Изменение показателя	Возможная причина
Тромбиновое время (норма — 14–17 с)	Укорочение	Гиперфибриногенемия (фибриноген 6 г и выше). Начальная, гиперкоагуляционная фаза ДВС-синдрома
	Удлинение	Гипофибриногенемия (фибриноген ниже 1 г/л) в случаях развития гипокоагуляционной фазы ДВС-синдрома и при тромболитической терапии (стрептокиназа, актилизе и др.). В последнем случае имеет место тормозящее влияние продуктов деградации фибриногена и фибрина (фрагментов D и D-димера) на конечный этап свертывания крови. Влияние других ингибиторов полимеризации фибринмономера (парапротеины, миеломные белки и др.). Дефекты в процессе получения крови для исследования (гемолиз, передозировка цитрата натрия, забор крови из гепаринизированного катетера)
Концентрация фибриногена в плазме (норма — 2–4 г/л)	Снижение	Гипокоагуляционная фаза ДВС-синдрома. Дисфибриногенемии
	Повышение	Инфекционные, воспалительные и аутоиммунные процессы. Нормально протекающая беременность
Уровень растворимого фибрина в плазме [норма по ортофенантролиновому тесту (ОФТ) — до 5 мг%]	Повышение	Активация внутрисосудистого свертывания крови (тромбозы, тромбозэмболии, ДВС-синдром). Аутоиммунные заболевания. Гиповолемия

Конечный этап свертывания крови в лабораторных условиях воспроизводится тромбиновым тестом, а также пробами с тромбиноподобными ферментами ядов змей (анцистрон, рептилаза, арвин и др.), которые, в отличие от тромбина, отщепляют от фибриногена только пептиды А и не активируют фактор XIII. Увеличение времени свертывания в этих тестах может быть связано с гипофибриногенемией, молекулярными аномалиями фибриногена, действием гепарина или других веществ с антитромбиновым эффектом (гирудина), а также с противосвертывающим эффектом большого количества продуктов фибринолиза. Тесты с коагулазами змеиных ядов не чувствительны к гепарину, что используется для дифференциальной диагностики нарушений свертывания крови.

Методы определения первичных физиологических антикоагулянтов

1. *Определение активности антитромбина III* (прогрессивной активности и гепарин-кофакторной активности антитромбина III).

2. *Определение антикоагулянтной активности, связанной с протеином С:*

а) скрининг нарушений в системе протеина С;

б) определение резистентности фактора Va к действию активированного протеина С;

в) определение активности самого протеина С;

г) определение активности протеина S.

3. *Определение волчаночного антикоагулянта при антифосфолипидном синдроме.*

При ДВС-синдроме и тромбозах, сопровождающихся наряду с повышенным тромбообразованием также активацией фибринолиза, содержание фибрин-мономеров, олигомеров фибрина (РФМК) и продуктов деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) резко возрастает. Для определения РФМК используют тесты паракоагуляции: *этаноловый*, *протаминсульфатный* и наиболее информативный из них — *ортофенантролиновый*, позволяющий определить РФМК в плазме крови, а также тесты с нагруженных фибриногеном латексных частиц или эритроцитов, иммунологические тесты определения фибринопептида А.

Исследование фибринолитической (плазминовой) системы

1. Спонтанный эуглобулиновый лизис.

2. Стимулированный эуглобулиновый лизис (провоцируется компрессией сосудов, фактором XIIa).

3. Определение плазминогена с применением хромогенного субстрата. Об ингибировании плазмина судят по тормозящему действию малых количеств плазмы или сыворотки на эуглобулиновый лизис при использовании метода титрования.

4. Активность отдельных активаторов и ингибиторов фибринолитической системы оценивают в тестах с хромогенными субстратами, чувствительными к плазмину и его активаторам (определение α_2 -антиплазмина, ингибитора активатора плазминогена). Содержание отдельных ингибиторов и активаторов фибринолитической системы определяют иммунологически.

Определение в плазме продуктов деградации фибриногена/фибрина (ПДФ) и их разновидности — D-димеров.

Клинически важное значение имеют тесты, позволяющие выявить склонность пациента к усиленному тромбообразованию

посредством выявления повышенной активности тромбина. Маркерами тромбинемии в крови являются растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), ПДФ, разновидность последних — D-димеры, фибринопептид А. Используют также тесты с нагруженными фибриногеном латексными частицами или эритроцитами.

Клиническое значение определенных лабораторных тестов при исследовании гемостаза

I. Система свертывания крови.

- Скрининговые тесты — это исследования, дающие представление о функционировании определенных этапов коагуляционного каскада в целом, а не об активности/концентрации отдельных компонентов этого каскада:
 - протромбиновое время;
 - активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время (АЧТВ);
 - тромбиновое время;
 - рептилазное время;
 - фибриноген.
- Исследование определенных факторов свертывания (определение их активности и концентрации).
- Маркеры активации свертывания крови:
 - фрагменты протромбина 1+2;
 - комплекс «тромбин—антитромбин»;
 - фибрин-мономеры;
 - фибринопептиды А;
 - D-димер, ПДФ.
- Ингибиторы свертывания крови:
 - антитромбин III;
 - протеин С;
 - протеин S;
 - патологические ингибиторы.

II. Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз.

- Количество тромбоцитов (объем, ширина распределения).
- Факторы тромбоцитов:
 - фактор 3 тромбоцитов;
 - фактор 4 тромбоцитов;
 - β -тромбомодулин.

- Функция тромбоцитов:
 - время кровотечения;
 - адгезия, агрегация;
 - ретракция.
- III. Фибринолитическая система.
- Скрининговые тесты:
 - фибриноген;
 - фибринолитическая способность;
 - эуглобулиновый тест;
 - рептилазное время.
- Исследование определенных факторов:
 - пламиноген;
 - тканевый активатор пламиногена.
- Исследование фибринолиза:
 - комплекс плазмин– α_2 -антиплазмин;
 - продукты деградации фибриногена/фибрина.
- Ингибиторы:
 - α_2 -антиплазмин;
 - ингибитор активатора пламиногена;
 - С1-ингибитор.

Исследование коагуляционного гемостаза

1. Активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время (АПТВ, АЧТВ). Определяют время свертывания рекальцифицированной (цитратной) бедной тромбоцитами плазмы в условиях стандартной контактной (каолин) и фосфолипидной (кефалин) активации свертывания крови. Используют каолин-кефалиновую (фосфолипидную) смесь. К неорганическим активаторам, кроме каолина, могут относиться силикаты, а органическим активатором может стать эллаговая кислота. Определение проводят мануально или с помощью коагулометра. Результат выражают в секундах, сравнивая время свертывания контрольной и исследуемой плазмы. Нужно учитывать, что в различных диагностических наборах разных фирм норма АПТВ разная, чаще 30–42 с.

АПТВ — стандартизированная коагуляционная проба, чувствительная к дефициту всех плазменных факторов свертывания, кроме VII. Тест чувствителен к экзо- и эндогенным антикоагулянтам. При нормальных показателях протромбинового и тромбинового времени АПТВ отражает состояние начального этапа внутреннего механизма свер-

тывания, свидетельствуя о дефиците XII, XI, IX, VII, VIII факторов, а также о наличии их ингибиторов, в том числе гепарина. Удлинение АЧТВ — гипокоагуляция, укорочение — гиперкоагуляция. АЧТВ используется для контроля терапии высокомолекулярным гепарином, но нужно помнить, что разные наборы АЧТВ неодинаково чувствительны к гепарину, и сами гепарины различаются по антикоагулянтному эффекту. Поэтому необходимо проводить предварительный контроль влияния разных доз используемого гепарина на показатели АЧТВ-теста.

2. Протромбиновое (тромбопластиновое) время. Определяется время свертывания рекальцифицированной (цитратной) бедной тромбоцитами плазмы при добавлении к ней тканевого тромбопластина определенной активности и чувствительности к дефициту факторов протромбинового комплекса (VII, X, V, II).

Согласно международным требованиям, тромбопластин должен быть стандартизирован изготовителем и иметь следующие характеристики:

- активность в протромбиновом тесте на контрольной нормальной плазме должна быть в пределах 11–15 с (в зависимости от способа выполнения теста: посредством мануальной техники или на коагулометре);
- препарат тромбопластина должен быть растворимым, т.е. приготавливаться без растирания, а простым разведением сухого реагента дистиллированной водой или раствором CaCl_2 (0,277%);
- тромбопластин должен иметь на маркировке или в спецификации международный индекс чувствительности (МИЧ, или ISI). МИЧ характеризует степень чувствительности тромбопластина к дефициту факторов протромбинового комплекса (особенно VII) и принят для максимального уменьшения различий при определении протромбинового времени разными тромбопластинами. МИЧ используемого тромбопластина не должен превышать 1,5; оптимально значение 1,3.

Существуют мануальный вариант метода и способ определения протромбинового времени на коагулометре (по Квику). Кроме того, имеются методы определения ПВ в капиллярной крови.

Результаты протромбинового теста выражаются в секундах (норма: 12–15 с — вручную; 11–14 с — на коагулометре).

Протромбиновый индекс (ПТИ): $\text{ПТИ} = (\text{ПВ контрольной плазмы} / \text{ПВ плазмы больного}) \times 100\%$.

Современный подход — определение протромбинового отношения (ПО) и международного нормализованного отношения (МНО):

$MHO = PO_{\text{мич}} = (ПВ \text{ плазмы больного} / ПВ \text{ контрольной плазмы})_{\text{мич}}$.
В норме МНО составляет 1,0–1,4.

Таким образом, чем выше МНО, тем больше гипокоагуляция.

Определение МНО оправдано при мониторинге стабильной фазы лечения оральными антикоагулянтами. МНО нельзя применять при первичной (стартовой) фазе терапии, поскольку в этой фазе значительно выражено влияние разницы в тромбопластинах. МНО нельзя применять для мониторинга общей популяции, поскольку отмечена биологическая вариабельность МНО при взаимодействии используемого тромбопластина с коагуляционной системой пациента. В таких случаях рационально использовать протромбиновый индекс.

Нужно учитывать, что результаты протромбинового теста могут искажаться при наличии в крови ингибиторов свертывания (в том числе пероральных антикоагулянтов: кумаринов, волчаночного антикоагулянта).

Определение первичных физиологических антикоагулянтов

Определение активности антитромбина III

Метод определения прогрессивной активности антитромбина.

Данный метод предназначен для выявления снижения активности (при отсутствии гепарина) антитромбина III в плазме. Активность АТ III определяют по способности исследуемой плазмы инактивировать тромбин, для чего ее предварительно обрабатывают сорбентом гепарина (гепасорб), затем подвергают тепловой дефибринизации и смешивают со стандартным количеством тромбина. После инкубации смеси в ней определяют остаточную коагуляционную активность тромбина. По уровню снижения активности тромбина в процентах от нормы оценивают активность АТ III в исследуемой плазме. В норме прогрессивная активность АТ III составляет 85–115%.

На снижение активности АТ III влияют некоторые наследственные тромбофилии, острый ДВС, лечение L-аспарагиназой (аспарагиназа), поздние гестозы, прием эстрогенных препаратов, тяжелые поражения печени, длительное применение больших доз гепарина натрия (гепарин). С другой стороны, при недостаточности АТ III (плазменного кофактора гепарина) снижается эффективность действия самого гепарина. Поэтому при перечисленных выше патологических состояниях необходим постоянный контроль уровня АТ III в плазме. Данная методика универсальна, так как позволяет проводить определение активности АТ III даже во время гепаринотерапии. Так, гепарин в концентрациях до 7,5 Ед/мл и фраксипарин в концентрации

до 2 анти-Ха Ед/мл плазмы не влияют на результаты исследования, так как по методике удаляются сорбентами гепарина.

Методы определения гепарин-кофакторной активности антитромбина III

С использованием хромогенного субстрата. В присутствии гепарина быстро ингибирует α -тромбин. В результате после внесения тромбин-гепаринового реагента в исследуемую плазму происходит быстрая инактивация тромбина. Скорость гидролиза нитроанилиновой связи хромогенного субстрата зависит от остаточной активности тромбина после инкубации с исследуемой плазмой.

Коагулометрический вариант. АТ III разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро ингибирует α -тромбин, что приводит к удлинению времени свертывания, по которому оценивается активность АТ III образца, выраженная в процентах к норме и определяемая по калибровочной кривой.

В норме АТ III в исследуемой плазме составляет 75–125%. Определение гепарин-кофакторной активности АТ III используют для диагностики ДВС-синдрома, дифференциальной диагностики тромбофилий (связанных и не связанных с дефицитом АТ III), мониторинга лекарственной терапии при этих патологических состояниях.

Определение антикоагулянтной активности, связанной с протеином С

Скрининг нарушений в системе протеина С

Протеин С — синтезируемый посредством витамина К в гепатоцитах гликопротеин, циркулирующий в крови в виде профермента. Под действием комплекса «тромбин–тромбомодулин» [или активатора змеиного (щитомордника) яда, обозначаемого как «протак»] протеин С активируется и действует как антикоагулянт в присутствии своего кофактора протеина S и фосфолипидов, вызывая протеолиз факторов Va и VIIIa. Глобальное определение дефектов в системе протеина С выполняют в АПТВ-тесте до и после внесения в плазму активатора протеина С (протака).

В нормальной плазме внесение активатора протеина С удлинит время свертывания примерно в 3 раза. При наличии нарушений в системе протеина С удлинение АЧТВ выражено значительно меньше. При тромбофилиях нарушения в системе протеина С могут возникать из-за дефицита протеина С, дефицита протеина S, резистентности фактора к действию активированного протеина С.

Определение конкретных нарушений в системе протеина С

Для определения резистентности фактора Va к действию активированного протеина С описанную выше методику изменяют, добавляя

к исследуемой плазме плазму, дефицитную по фактору Va, и определяя АЧТВ. Если исследуемая плазма содержит нормальные количества Va, то АЧТВ в этом тесте удлинится в 2 раза; если исследуемая плазма имеет дефицит Va, то АЧТВ удлинится в большей степени.

Для определения активности самого протеина С:

а) вышеописанную методику изменяют, добавляя к исследуемой плазме плазму, дефицитную по протеину С, и определяют с ней АЧТВ (результаты оценивают по калибровочному графику). В норме активность протеина С составляет 70–140% (коагулометрическое определение);

б) описанную выше методику изменяют, добавляя к исследуемой плазме хромогенный субстрат, у которого активированный протеин С разрушает нитроанилиновую связь, изменяя поглощение при длине волны 405 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см (определение с использованием хромогенного субстрата).

Нужно отметить, что хромогенный вариант методики определяет суммарную активность протеина С, а коагулометрическое определение оценивает активность карбоксилированной части протеина С, что дает несовпадение результатов этих вариантов метода, особенно при лечении непрямими антикоагулянтами.

Определение активности протеина S (кофактора активированного протеина С) основано на анализе тест-системы, содержащей очищенный активный протеин С, субстрат его действия (Va) и дефицитную по протеину S плазму. Содержание протеина S, выраженное в процентах к норме, определяют по калибровочной кривой (метод определения коагулометрический, по времени свертывания). В норме содержание протеина S составляет 65–140%.

Определение активности протеина С или S показано:

- при подозрении на наследственную или приобретенную недостаточность протеинов С или S (наследственный дефицит протеина С может приводить к тяжелым тромбозам; приобретенная недостаточность протеинов С или S может быть обусловлена дефицитом витамина К при приеме непрямых антикоагулянтов, наблюдается при тяжелом поражении печени, остром ДВС-синдроме);
- проведении мониторинга заместительной терапии концентратами протеина С.

Исследование фибринолитической (плазминовой) системы

Нужно учитывать, что плазмин и его активаторы фиксируются в сгустках фибрина (тромбах), где происходит интенсивное расщепление субстрата, тогда как в плазме фибринолиз бывает выражен слабо из-за блокирования плазмينا α_2 -антиплазмином. Вследствие интенсивной убыли в тромбы и ускорения метаболизма плазминогена и его активаторов при ДВС и массивных тромбозах уровень этих компонентов в плазме может снижаться. Такое же истощение системы возникает после резкой активации фибринолиза, введения фибринолитиков: стрептокиназы, урокиназы, тканевого активатора плазминогена (ТАП).

Спонтанный эуглобулиновый лизис

При осаждении эуглобулиновой фракции плазмы основные ингибиторы фибринолиза (α_2 -антиплазмин) остаются в надосадочной жидкости и удаляются. Эуглобулиновый лизис (ЭЛ) отражает активность фибринолиза в условиях исключения ингибирующего действия антиплазминов. Его скорость показывает в основном количество плазминогена в плазме и степень его активации. Определяют время спонтанного лизиса сгустка из эуглобулиновой фракции плазмы (в норме 180–240 мин) при добавлении к ней раствора хлорида кальция.

Укорочение времени лизиса свидетельствует об активации, а удлинение — об ослаблении фибринолиза. Метод требует учета исходного количества фибриногена в плазме, полноценности полимеризации фибриногена и наличия гепаринемии, так как при сниженном его количестве время лизиса может укорачиваться, а при гиперфибриногенемии — удлиняться.

Стимулированный эуглобулиновый лизис

Этот метод применим для изучения потенциальной способности плазминогена к активации при искусственной стимуляции выброса из эндотелия в кровь тканевого активатора плазминогена.

1. Для стимуляции выделения ТАП используют создание венозного стаза путем наложения на плечо на 15–20 мин манжеты сфигмоманометра с давлением 80 мм рт.ст. Измеряют время спонтанного эуглобулинового лизиса до и после наложения манжеты (в норме

после стаза оно укорачивается в 1,5–2 раза, а при недостаточном выходе ТАП удлиняется).

2. В качестве активатора можно использовать стрептокиназу. Эуглобулиновую фракцию исследуемой плазмы, лишенную основных ингибиторов фибринолиза, коагулируют тромбином и определяют время растворения сгустка под влиянием такой концентрации стрептокиназы, которая обеспечивает максимальную активацию плазминогена и его переход в плазмин в кратчайшее время. Тестирование различных концентраций стрептокиназы производят на эуглобулинах, полученных из смешанных образцов плазмы 5–7 здоровых людей. Делают различные разведения стрептокиназы (1:50, 1:100, 1:200 и др.), выбирая ту минимальную концентрацию, которая индуцирует лизис эуглобулинов в кратчайшее время (75–85 с). В методике должен использоваться высокоактивный тромбин во избежание неполного свертывания фибриногена и получения неполноценных сгустков, что исказит результаты, особенно при ДВС. Материал для исследования — цитратная, бедная тромбоцитами плазма. Определяется индекс резерва плазминогена в процентах при делении времени (ЭЛ) контрольной плазмы на ЭЛ исследуемой плазмы.

Снижение индекса резерва плазминогена отмечается при недостаточном уровне или снижении активности плазминогена (малой его продукции, аномалиях или повышенном потреблении). Абсолютное снижение плазминогена из-за его потребления и блокады наблюдается при ДВС, массивных тромбозах, лечении большими дозами тромболитиков (поэтому индекс резерва плазминогена используется при контроле терапии этих состояний); восстановление резерва плазминогена — при введении препаратов плазминогена или компонентов крови, содержащих этот профермент (свежезамороженная плазма, криопреципитат и др.).

3. В качестве активатора эуглобулинового лизиса можно использовать фактор XIIa. В основе метода — ускорение лизиса эуглобулинов, полученных из обработанной каолином бедной тромбоцитами плазмы. Из исследуемой плазмы выделяют эуглобулиновую фракцию, в которой с помощью каолина активирован мост XIIa → калликреин → плазминоген, и определяют ЭЛ. В норме ЭЛ в этом тесте составляет 4–10 мин. Замедление XIIa ЭЛ имеет место при снижении уровня или недостаточной активации фактора XII, прекалликреина, высокомолекулярного кининогена, плазминогена. Эта система очень лабильна и может нарушаться при различной патологии (при большинстве тромбозов,

при ДВС (ослабление XIIa ЭЛ уже в первой фазе процесса), заболеваний печени, иммунных и иммунокомплексных заболеваниях и др.). Удлинение ЭЛ (до 30–60 мин и более) наблюдается чаще при дефиците пламиногена (при введении стрептокиназы ЭЛ не ускоряется), реже при дефиците XIIa, прекалликреина или ВМК либо при наличии их ингибиторов (в данном случае при добавлении в систему стрептокиназы ЭЛ ускоряется).

Определение концентрации пламиногена с применением хромогенного субстрата

При добавлении стрептокиназы к разведенной исследуемой плазме — цитратной, бедной тромбоцитами, — образуется пламиноген-стрептокиназный комплекс, расщепляющий хромогенный субстрат, скорость гидролиза которого зависит от концентрации пламиногена. Измеряют оптическую плотность при 405 нм после добавления уксусной кислоты (двухточечный метод), кювета 1 см. Результаты — в процентах к показателям нормальной плазмы. Норма — 75–140%. Данный тест используют при ДВС, диагностике тромбофилий, для мониторинга тромболитической терапии при тромбозах, тромбоэмболиях, инфарктах.

Определение степени ослабления фибринолиза

1. *Определение α_2 -антиплазмина.* Это наиболее важный ингибитор фибринолиза, который быстро и необратимо формирует неактивный комплекс с пламиногеном. Метод основан на определении способности α_2 -антиплазмина инактивировать в исследуемой плазме добавляемый в нее очищенный плазмин. Содержание оставшегося плазмина определяется по степени гидролиза хромогенного субстрата, специфичного к данному ферменту. Исследуется цитратная, бедная тромбоцитами плазма. Измеряют оптическую плотность при 405 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см. Вычисляют скорость изменения поглощения за 1 мин, результаты представляются в процентах к показателям нормальной плазмы. Норма — 80–120%. Снижение активности α_2 -антиплазмина происходит при активации фибринолиза (ДВС, операции на органах с большим количеством пламиногена, аденомэктомия), нарушении синтеза антиплазмина (заболевания печени).

2. *Определение ингибитора активатора пламиногена.* Тканевый активатор пламиногена и урокиназа (усиливают активность плаз-

миногена) ингибируются так называемыми ингибиторами активации плазминогена (РАI-1, РАI-2). Принцип метода заключается в оценке ингибиторного влияния РАI-1 в исследуемой плазме на очищенную урокиназу. Активность остаточной урокиназы определяется по ее способности превращать плазминоген в плазмин, который измеряют по его способности расщеплять хромогенный субстрат (существуют кинетический и двухточечный варианты метода). Исследуется цитратная, бедная тромбоцитами плазма. Измеряют оптическую плотность при 405 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см. Норма РАI — 03–305 Ед/мл. Повышение РАI наблюдается при острой тромбоэмболии, септицемии, ДВС, онкологии, послеоперационном периоде, при беременности, особенно осложненной гестозом. Высокий РАI — это большой риск развития и рецидива инфарктов, послеоперационных тромбозов.

Определение D-димера

D-димер — продукт деградации фибрина — образуется под действием плазмина на фибрин. Частицы латекса, покрытые моноклональными антителами, агглютинируют при смешивании с плазмой, содержащей D-димер. При положительном результате, наличии агглютинации (качественная методика) выполняют полуколичественное определение, для чего плазму разводят буфером и проводят тест с разными разведениями. О количестве судят по тому наибольшему разведению плазмы, в котором еще есть агглютинация. На показатели теста не влияет содержание в плазме фибриногена, ранних продуктов фибринолиза (фрагментов X и Y) и фрагментов D и E. Определение D-димера можно проводить не только в цитратной, бедной тромбоцитами плазме, но и в сыворотке крови, моче и других биологических жидкостях.

Показатель качественного теста положительный (уровень D-димера >500 нг/мл) при массивном внутрисосудистом свертывании крови (тромбозы магистральных вен, тромбоэмболии легочной артерии), ДВС различного генеза, лечении активаторами фибринолиза (стрептокиназа, тканевый активатор плазминогена, авелизин и др.), тромбозах, инфаркте миокарда. Определение D-димера используют в сочетании с определением фибриногена, плазминогена для контроля терапии.

Определение маркеров внутрисосудистого свертывания крови

Для диагностики ДВС-синдрома и массивных тромбозов используются маркеры:

- внутрисосудистой агрегации тромбоцитов;
- свертывания крови (выражающегося в гипертромбинемии и гиперфибринемии);
- фибринолиза (D-димер, продукты деградации фибриногена ПДФ);
- РФМК.

Для определения РФМК чаще всего используют ортофенантролиновый тест.

Ортофенантролиновый тест основан на оценке времени появления в исследуемой бедной тромбоцитами цитратной плазме хлопьев (зерен) фибрина после добавления к ней фенантролина. Плазму исследуют не позже чем через 1 ч после получения крови, замораживать не рекомендуется. Следует обратить особое внимание на правильность забора крови для исследования, поскольку погрешности в этой части приводят к активации свертывания и образованию РФМК *in vitro*. Учет проводят только в течение 150 с. Тест положителен, если в течение этого времени регистрируются хорошо видимые в проходящем свете хлопья или зерна фибрина (паракоагулянта). Засаекают точное время появления хлопьев и по таблице определяют количество РФМК. В норме у 94% здоровых людей паракоагуляция в этом тесте определяется в интервале 70–150 с или же вообще не определяется. Данный тест высокочувствителен (30–35 мкг/мл в эквиваленте фибрин-мономера). Гепаринотерапия (гепарин в плазме до 10 Ед/мл) не влияет на результаты исследования. Нужно отметить, что при катастрофических, остро протекающих формах ДВС, приводящих к выраженной гиперфибриногемии (при эмболии околоплодными водами), изначально высокие показатели паракоагуляционных тестов по мере прогрессирования процесса могут снижаться.

К интегральным методам оценки состояния гемостаза, учитывающим взаимодействие всех его звеньев, относятся *тромбоэластография* и *тест генерации тромбина*.

Тромбоэластография (ТЭГ) основана на графической регистрации изменений вязкости и эластических свойств крови в процессе образования фибринового сгустка. С помощью современной тром-

боэластографии выявляются ранние признаки внутрисосудистого свертывания крови, гипокоагуляция, обусловленная дефицитом факторов свертывающей системы, функциональные нарушения тромбоцитов, гиперфибринолиз. Также можно оценить эффективность антикоагулянтной и антиагрегантной терапии. Современные анализаторы ТЭГ измеряют физические свойства сгустка, используя механические, оптомеханические методы его обнаружения. Образование и лизис тромба можно оценить в динамике (рис. 16).

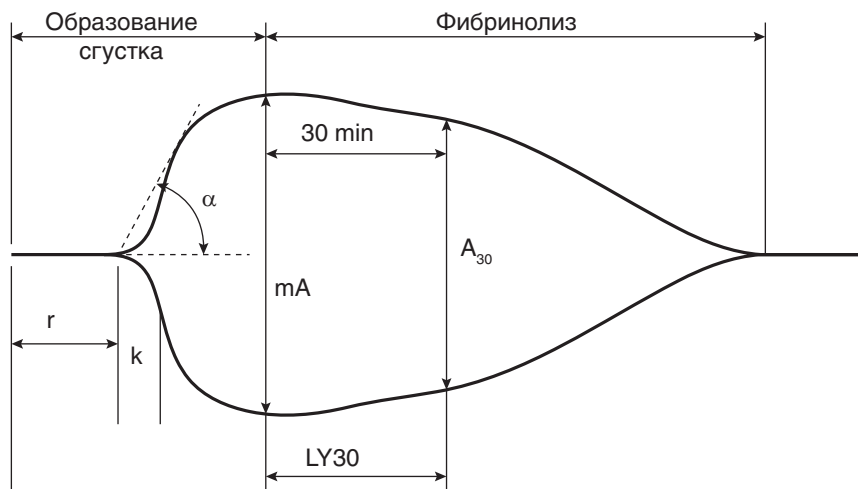


Рис. 16. Кривая ТЭГ

Наиболее важные стандартные параметры ТЭГ:

- «r» — это время от старта теста до появления признаков тромбообразования (достижения амплитуды 2 мм). С интервалом «r», как показали исследования, совпадает фаза инициации коагуляционного каскада.
- «k» — время начального тромбообразования, совпадает с фазой усиления. Описывает динамику образования стабильного сгустка через активированные тромбоциты и фибрин.
- «α» — угол между касательной к кривой, проведенной из ее начала и горизонтальной плоскости. Отображает динамику свертывания — скорость роста фибрина и его структурообразования. Углом характеризуется фаза распространения. Уменьшенный угол α указывает на состояние гипокоагуляции.

- «*tA*» — максимальная амплитуда кривой — максимальная плотность сгустка, которая достигается перед его растворением при фибринолизе. Это измерение сгустка и его качества.
- «*LY30*» — показатель, отражающий степень изменения амплитуды кривой через 30 мин после *tA*. Представляет собой процесс растворения сгустка — лизис.
- «*LY60* (45)» описывает соответствие остаточной плотности сгустка 60 (45) мин после «*г*». В некоторых случаях эти показатели могут иметь значение при гиперфибринолизе, развившемся относительно поздно.

Изолированное изменение параметра «*г*» является специфичным признаком дефицита ряда факторов свертывания. При тяжелой форме гемофилии интервал «*г*» может выйти за пределы одного экрана. Удлинение данного параметра помогает принять решение о замещении факторов свертывания крови (например, свежезамороженная плазма, концентраты факторов свертывания). Удлинение «*k*», так же как и низкий показатель «*tA*», чаще вызвано нарушением функции тромбоцитов, нарушениями полимеризации фибрина или дефицитом фибриногена. Сочетание удлиненного «*k*» со значительным снижением «*tA*» характеризует тяжесть нарушений. При таких изменениях возможно применение концентрата тромбоцитов или фибриногена. Перед применением препаратов, содержащих фибриноген, необходимо убедиться в отсутствии гиперфибринолиза, чтобы не привести к возникновению нестабильного сгустка. Высокое значение «*tA*» указывает на гиперкоагуляцию. Повышение «*LY30*» более 8% говорит об избыточном фибринолизе. Различают первичный фибринолиз, который может сочетаться с нормо- или гипокоагуляцией, и вторичный — в ответ на гиперкоагуляцию. «*LY30*» помогает при решении в пользу или против терапии антифибринолитическими препаратами.

Для выполнения ТЭГ возможно использование как нативных образцов, так и крови, стабилизированной цитратом натрия. В первом случае анализатор должен быть максимально приближен к пациенту, так как время от забора крови до постановки теста не может превышать 3–6 мин. Использование стабилизированной крови дает возможность повторить тест в случае технического сбоя, расширить количество применяемых дополнительных методик ТЭГ (тест с гепариназой, тест на активный фибриноген и др.).

Тест генерации тромбина (ТГТ) является интегральным методом оценки активации гемостаза. Данный метод, в отличие от коагуляци-

онных тестов, позволяет оценить степень выраженности активации гемостаза по результатам изменения таких показателей, как эндогенный тромбиновый потенциал (Endogenous Thrombin Potential – ETP), пиковое количество тромбина (Peak Thrombin – PT), а также чувствительности к тромбомодулину. ТГТ способствует более четкому выделению групп риска по развитию тромбоэмболических осложнений, а также позволяет оценить индивидуальную чувствительность пациента к препаратам антикоагулянтного действия.

При анализе кривой генерации тромбина оценивают следующие параметры: Lagtime — время инициации свертывания (время ожидания); Peak thrombin — максимальное количество тромбина; C-ETP — эндогенный тромбиновый потенциал; D-ttPeak — время достижения пика (рис. 17).

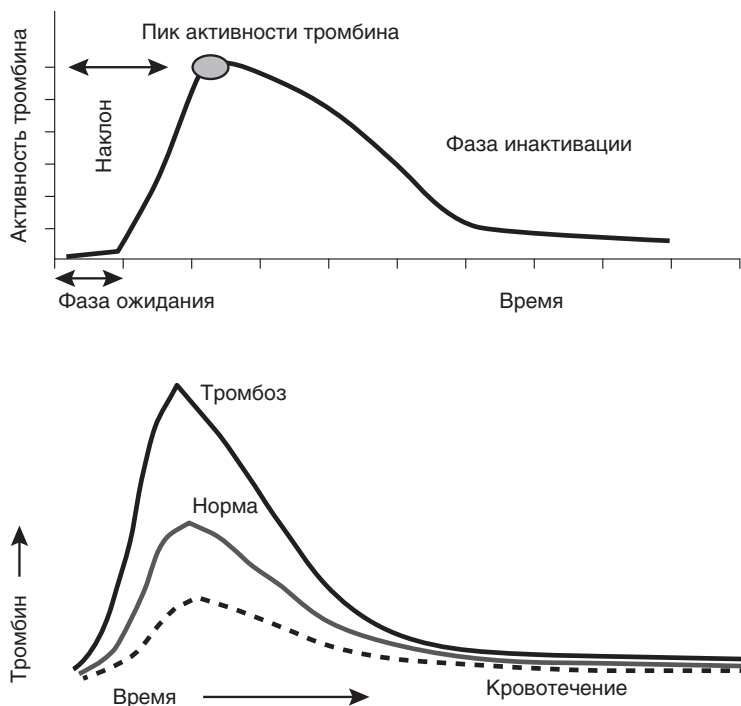


Рис. 17. Общая схема кинетики образования и инактивации эндогенного тромбина (<http://health-ua.com/wp-content/uploads/2016/03/43.jpg>)