

ПОКАЗАТЕЛИ НА ХЕМОСТАЗАТА В РУТИННАТА ДИАГНОСТИКА

К. Икономова¹, В. Минчева² и М. Атанасова¹

¹Клинична лаборатория и имунология, Национална многопрофилна транспортна болница – София

²Клиника по кардиология, Национална многопрофилна транспортна болница – София

HAEMOSTASIS INDICES IN ROUTINE DIAGNOSTIC

K. Ikononova¹, V. Mincheva² and M. Atanasova¹

¹Clinical Laboratory and Immunology, National Multiprofile Transport Hospital – Sofia

²Clinic of Cardiology, National Multiprofile Transport Hospital – Sofia

Резюме. Хемостазата е сложен физиологичен механизъм, който спира кръвотечението при нараняване на съдовата стена и поддържа течното състояние на кръвта. Тя може да бъде разглеждана като съвкупност от два последователни процеса – на кръвосъсирване, в частност – формиране на тромб, и на последваща фибринолиза – разграждане на формирания тромб. Клинико-лабораторните методи при изследване на хемостазата могат да се разделят на няколко основни групи: методи за изследване на първична и вторична хемостаза, методи за изследване на инхибиторите на кръвосъсирване, методи за изследване на фибринолиза. Методите за изследване на хемостазата се използват при поставяне на диагнозата на хеморагични диатези и тромботични заболявания, както и при мониториране на терапията с антикоагуланти и фибринолитици. С въвеждането в практиката на новите орални антикоагуланти се поставят нови изисквания към използваните лабораторни методи и показатели.

Ключови думи: съсирване, фибринолиза, антикоагуланти, лабораторни методи и показатели

Summary. Haemostasis is a complex physiological mechanism responsible for stopping the bleeding in cases of vessel-wall damage while keeping the liquid state of the circulation. It can be described as a combination of two processes: blood clotting with thromb formation in particular, and fibrinolysis, the degradation of a formed thromb. Clinico-laboratory methods for haemostasis can be divided into several groups: methods for examination of primary and secondary haemostasis, methods for examination of coagulation inhibitors, methods for examination of fibrinolysis. The methods for examination of haemostasis are applied in the diagnosis of haemorrhagic diatheses and thrombosis as well as in monitoring anticoagulant therapy. With the introduction into the clinical practice of the new oral anticoagulants, new requirements are raised to the current laboratory methods and laboratory tests.

Key words: coagulation, fibrinolysis, anticoagulants, laboratory methods and indices

ВЪВЕДЕНИЕ

Хемостазата е система от физиологични процеси, които, от една страна, преустановяват кръвозагубата от наранената повърхност, а от друга – осигуряват течното състояние на кръвта

и нормалното кръвообращение. Основните компоненти на хемостазата включват кръвоносните съдове, тромбоцитите и плазмените фактори на кръвосъсирване и фибринолиза. Хемостазата е явление, което протича в живия организъм (in

vivo), докато съсирването и фибринолизата могат да се осъществят в епруветка (in vitro). В хода на хемостазата условно се разграничават пет фази: съдова (2-5 секунди), тромбоцитна (3-10 секунди), плазмена (30-120 секунди), фибринолиза (6-48 часа), възстановителна (10-60 дни) [17].

СЪДОВА ФАЗА

При нормални условия съдовата стена не позволява полепване на формени елементи върху нея. Това се дължи на протеогликаните – хепарансулфат и дерматансулфат. Те са аналози на хепарина с локално действие и притежават антикоагулантен ефект. Освен това ендотелните клетки синтезират азотен окис (вазодилатор), простаглицин (антиагрегант), активатори на плазминагена – t-PA, TPAI (инхибитор на пътя на тъканния фактор). Но ендотелните клетки синтезират и вещества с прокоагулантни свойства – фибронектин, витронектин, тромбосподин, тъканен фактор (ф. III), PAI – инхибитор на плазминогеновия активатор, фактор на Фон Вилебранд (vWF). Здравият ендотел възпрепятства образуването на тромб, но субендотелът (колаген, базална мембрана) е силно тромбогенен. Целостта на ендотела се нарушава при атеросклеротични, възпалителни и травматични процеси, които създават условия за тромбози. Патологичното кръвосъсирване се потенцира от промени в състава на кръвта и от забавяне на кръвния ток [14].

Таблица 1. Фактори на ендотела с про- и антикоагулантно действие

Фактори на ендотела с прокоагулантно действие	Фибронектин, витронектин, тромбосподин, тъканен фактор (ф. III), PAI – инхибитор на плазминогеновия активатор, фактор на Фон Вилебранд (vWF)
Фактори на ендотела с антикоагулантно действие	Азотен окис, простаглицин, активатори на плазминагена – t-PA, TPAI (инхибитор на пътя на тъканния фактор)

ТРОМБОЦИТНА ФАЗА

Тромбоцитите са изградени от периферна зона (хиаломер), която изгражда опорната структура на клетката и осигурява промени във формата ѝ. Периферната зона е свързана с процесите на адхезия, агрегация и освобождаване

на съдържимото от гранулите на тромбоцитите. Централната зона се състои от грануломер, съдържащ β -тромбоглобулин, тромбоцитен фактор-4, тромбосподин, фибриноген, фактор на фон Вилебранд, тромбоцитен растежен фактор, АТФ, серотонин, калций. От фосфолипидите в тромбоцитната мембрана се образува тромбоцитен фактор-3, необходим за активирането на ендогенната система на кръвосъсирване), и тромбоспан А2 (активиращ тромбоцитната агрегация). Върху мембраната са експресирани рецептори за фибриноген, фибронектин, витронектин, калций (CD 41), фактор на фон Вилебранд (CD 42), тромбин (gp V), колаген (CD 49/CD29). Тези рецептори играят роля в процесите на адхезия на тромбоцитите към субендотелната базална мембрана и колагена, както и в агрегирането помежду им. Основен компонент на адхезията е факторът на фон Вилебранд. Липсата му обуславя силно удължено време на кръвене. При активиране на тромбоцитите се отделят секреторни продукти – АДФ, тромбоспан А2, спомагащи за образуване на тромбоцитна запушалка. Отделеният от гранулите тромбоцитен фактор-3 се отлага върху мембраната и формира фосфолипидна мицела, върху която се прилепват плазмените фактори на съсирването. Вследствие на контактното активиране от колагена и базалната мембрана (вътрешен път) и от тъканния тромбопластин (външен път) в тромбоцитния тромб бързо се развива тромбинова активност с образуване на фибринови нишки. В образувалата се фибринова мрежа се откриват тромбоцити, левкоцити, еритроцити – червен тромб. Ретракцията на съсирека настъпва вследствие контрахиране на тромбоцитите и отделяне на серум, при което тромбът се стабилизира [9].

Таблица 2. Лабораторни показатели за изследване на тромбоцити

Характеристика	Показател
Качество и морфология на тромбоцитите	Брой, обем, разпределение
Определяне на тромбоцитни фактори	Фактор-3, фактор-4, β -тромбоглобулин
Определяне на тромбоцитна функция	Време на кръвене, функционални тестове за изследване на тромбоцитна адхезия, разпростиране, агрегация и ретракция, тромбоцитни рецептори (CD 41, CD 42, CD 49)

ПЛАЗМЕНА ФАЗА НА КРЪВОСЪСИРВАНЕТО

Плазмените фактори на съсирването включват циркулиращи плазмени глико- и липопротеини и калциеви йони. Те се разделят в три групи:

1. фактори на съсирването
 - външна система
 - вътрешна система
 - общ път.
2. Фактори на фибринолизата
3. Коагулационни инхибитори.

Основната функция на кръвосъсирването е превръщането на разтворимия фибриноген в неразтворима фибринова мрежа. Процесът е свързан със серия ензимни реакции, образувачи ензимна каскада. Факторите на съсирване в плазмата са в неактивно състояние, а активирането им протича в определена последователност. При тъканно увреждане се освобождават отрицателно заредени фосфолипопротеини – тъканен тромбопластин. Този фактор се съдържа в тромбоцити, левкоцити, ендотелни клетки, мозъчна, белодробна, бъбречна тъкан, атероматозни плаки. Интактните клетки не са прокоагулантни, тъй като при нормални условия отрицателно заредени фосфолипопротеини са разположени от вътрешната страна на клетъчните мембрани.

Проучванията показват, че въпреки разделянето между вътрешната и външната система са налице сложни взаимоотношения. Установено е, че фактори от вътрешната система могат да активират фактори на външната система, и обратно [18].

Кръвосъсирването протича в три фази:

Образуване на активен фактор X – Включени са два пътя на активиране: вътрешен (компоненти – високомолекулен кининоген, каликреин, XII, XI, IX, VIII, тромбоцитен фактор-3) и външен (компоненти – тъканен тромбопластин, VII).

Образуване на тромбин – протромбиназен комплекс (Xa, Va, Ca²⁺, фосфолипидна повърхност).

Образуване на фибрин – фибрин – мономер, разтворим фибрин (S), неразтворим фибрин (I).

Почти всички фактори на съсирването се образуват в черния дроб, фактор V се синтезира и от тромбоцитите, а фактори XII, XI могат да се синтезират и в моноцит-макрофагналната система. Плазмените фактори, включени в кръвосъсирването, участват в ензимните реакции като субстрати, кофактори или ензими. В циркулацията се откриват като неактивни предшественици [17].

Плазмените фактори на съсирването се групират по следния начин:

Контактни фактори – фактор XII (фактор на Хагеман), фактор XI (фактор на Розентал), високомолекулен кининоген (фактор на Фитцджералд), каликреин (фактор на Флетчер).

Активират се от увредена повърхност, колаген, базални мембрани, активирани тромбоцити, отрицателно заредени фосфолипиди. Те са отговорни за вътрешния път на съсирване. Освен това фактор XII активира фибринолизата.

Таблица 3. Плазмени фактори на кръвосъсирване

Фактор	Синоним	Концентрация	Функция
I	Фибриноген	2-4 g/L	Полимеризира до съсирек
II	Протромбин	100 mg/L	Конвертира фибриногена до фибрин Активира: фактори V, VII, XIII; протеин C
III	Тъканен тромбопластин	0	Кофактор за активацията на фактор X чрез фактор VIIa
IV	Калций	2,12-2,62 mmol/l	Кофактор на почти всички етапи
V	Прореактин	10 mg/L	Кофактор за активацията на фактор II чрез фактор Xa
VII	Проконвертин	500 mcg/L	Активира фактор X
VIII	Антихемофилен глобулин	200 mcg/mL	Кофактор за активация на фактор X чрез фактор IXa
IX	Плазмен тромбопластинов компонент	50 mg/mL	Активира фактор X
X	Фактор на Stuart-Prower	10 mg/mL	Активира фактор II
XI	Плазмен тромбопластин	5 mg/L	Активира фактор IX
XII	Фактор на Хагеман	40 mg/mL	Активира фактор XI, VII и прекаликреин
XIII	Фибрин-стабилизиращ фактор	10 mg/L	Образува кръстосани връзки с фибрина и го стабилизира

Витамин К-зависими фактори – фактор II (протромбин), фактор VII (проконвертин), фактор IX (антихемофилен фактор В), фактор X (фактор на Стюард-Провер), протеин С (Pr C) и протеин S (Pr S).

Тромбин-чувствителни фактори – фибриногена група. Тук се включват – фактор I (фибриноген), фактор V (проакселерин), фактор VIII (антихемофилен глобулин), фактор XIII (фибрин-стабилизиращ фактор).

В хода на съсирването се различават следните етапи:

1. Образуване на тромбопластин. В процеса участват две системи – външна (тъканна) и вътрешна (плазмена). Основен елемент на външната система е тъканият тромбопластин, който се образува от разрушените тъкани. При вътрешната система в образуването на тромбопластин участват фактори на плазмата – фактор XII, XI, IX, VIII, X.

2. Образуване на тромбин. Под действие на тромбопластин и калциеви йони протромбинът се превръща в тромбин.

3. Образуване на фибрин. Образуваният тромбин спомага за превръщането на фибриногена във фибрин.

4. Ретракция на съсирека. Образуваните фибринови нишки обхващат формените елементи и ги отделят от серума.

5. Разтваряне на съсирека (фибринолиза). Основната фибринолитична съставка е плазмин

(фибринолизин). В кръвообращението той е в неактивна форма – плазминоген. Активира се от плазминогенов активатор, а се инхибира от антиплазмин.

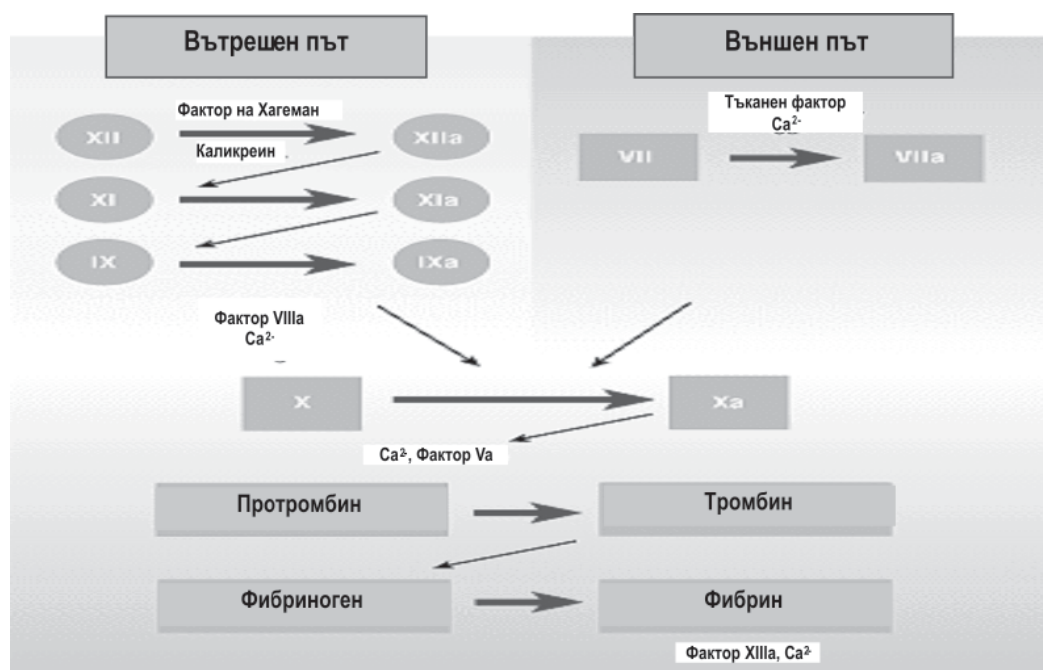
Процесите на кръвосъсирване и фибринолиза са в баланс, за да може да се осигури свободна, безпрепятствена циркулация на кръвта. В плазмата факторите на съсирване са в неактивна форма. Със започване процеса на кръвосъсирване те се активират под действие на ензими, калциеви йони и фосфолипиди. Осигурени са механизми, които не позволяват произволно активиране на процесите. Повечето съставки са в неактивна форма, а активните съставки са под контрола на активатори и инхибитори [13].

Лабораторното изследване на кръвосъсирването е неотменна част в процеса на диагноза, проследяване, прогноза и в профилактиката на редица заболявания.

Контролни механизми на кръвосъсирването

Механизми, ограничаващи образуването на тромбоцитен тромб, са свързани с продуктите на **ендотела** – простациклин, тромбомодулин и активатори на фибринолизата (активатор на плазминоген). Освен това левкоцитите, участващи в състава на червения тромб, освобождават протеази, разграждащи факторите на съсирване.

В **циркулацията** активните кръвосъсирващи фактори са нестабилни и имат кратък полуживот,



Фиг. 1. Кръвосъсирване – основни етапи. Вътрешна и външна система на кръвосъсирването

а локално високите им концентрации се разреждат в кръвния ток.

Клетките на РЕС имат способността да елиминират активираните фактори и разтворимите фибриногенови комплекси. Образованият в черния дроб протеин С (Pr C) инактивира фактор Va и VIIIa.

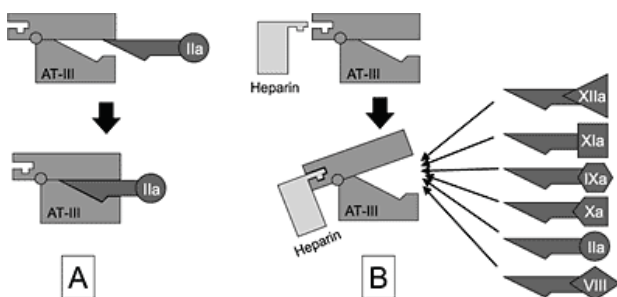
Тъй като голяма част от факторите на съсирване и фибринолиза са серинови протеази (II – протромбин, VII – проконвертин, IX – антихемофилен фактор, X – фактор на Стюард-Провер, XI – фактор на Розентал, XII – фактор на Хагеман, прекаликреин – фактор на Флетчер, PI – плазмин, t-PA – тъканен плазминогенов активатор) за поддържане на нормален кръвоток се включват **инхибитори на сериновите протеази** (АТ III – антитромбин III, PAI – инхибитор на плазминогеновия активатор, HCII – хепаринов кофактор II, протеин С – Pr C, alpha-2-antiplasmin, alpha-2-macroglobulin) [10].

Инхибитори на плазмените фактори на съсирването

АТ III действа бавно, но в присъствие на **хепарин** свързването му със сериновите протеази (тромбин – фактор IIa, фактори XII, XI, X, IX, VIII) се ускорява 2000 пъти.



Нискомолекулните хепарини са главно с ефект срещу фактор Ха, а високомолекулните срещу тромбина. Субстанциите, които пречат за превръщането на фибриногена във фибрин са познати като **антитромбини**. Антитромбин I е самият фибрин, а антитромбин VI – фибрин деградиационните продукти (ФДП). Значението за определяне на АТ III е тясно свързано със състояние на хиперсъсирваемост.



Фиг. 2 (А) Взаимодействие антитромбин III – тромбин. (В) Блокиране на серинови протеинази (тромбин – фактор IIa, фактори XII, XI, X, IX, VIII) от хепарин, посредством антитромбин III

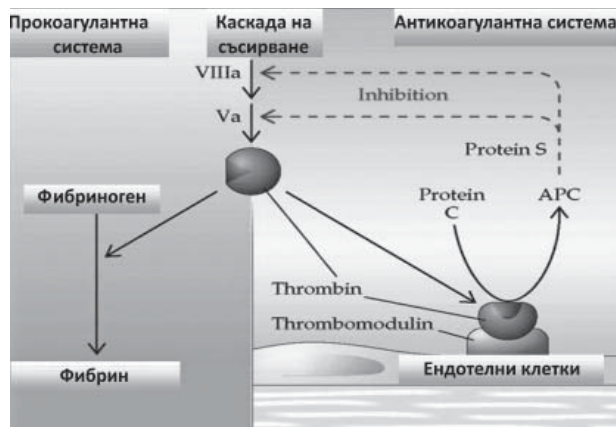
HCII – хепаринов кофактор II, е специфичен инхибитор на тромбина

Alpha-2-macroglobulin инхибира частично протромбин и каликреин, плазмин

TPFI – инхибитор на пътя на тъканния фактор – инхибира фактор III, VII, X. Освобождава се от ендотелните клетки и тромбоцитите. В циркулацията се свързва с LDL и HDL.

Инхибитори на активираните фактори

Протеин С и протеин S се синтезират в черния дроб с помощта на витамин К. Активирането на протеин С (APC) се извършва с помощта на тромбин (от циркулацията), тромбомодулин (от ендотела) и протеин S (кофактор на протеин С). Блокират се факторите Va и VIIIa. Тази система е особено важна в малките кръвоносни съдове, където съотношението между ендотелна повърхност и циркулиращ обем кръв е много голямо. По този начин активираният протеин С играе роля на естествен антикоагулант. Освен това протеин С има фибринолитична активност, тъй като активира t-PA (тъканния плазминогенов активатор) и блокира PAI (инхибитора на плазминагеновия активатор). Действието на протеин С се ограничава от циркулиращия протеин С инхибитор [15].



Фиг. 3. Активиране на протеин С от тромбин, тромбомодулин и протеин S. Инхибиране на фактори Va VIIIa от активирания протеин С (APC)

Фаза на фибринолиза

Фибринолизата е система, при която образуваният фибринов съсирек се разгражда. Процесът на фибринолиза е по-бавен в сравнение със съсирването и завършва с образуване на фибрин-деградационни продукти (ФДП). Локалното ограничаване на процесите на кръвосъсирване, от една страна, се постига чрез наличие на инхибитори на кръвосъсирването (АТ III, HCII, TPFI, Alpha-2-macroglobulin, протеин С, протеин S), а от друга, чрез способността на факторите на съсир-

ването едновременно да активират и фибринолизата.

Компонентите на фибринолитичната система включват плазминоген и фактори, които превръщат плазминагена в активен плазмин [16].

Фактори, превръщащи плазминагена в активен плазмин. Към трансформиращите фактори спадат фактори на контактната фаза на кръвосъсирването – каликреин, високомолекулен кининоген, фактор XII, t-PA - тъканен плазминогенов активатор, u-PA – уринен плазминогенов активатор или урокиназа. В активиране на плазминагена участват възпалителни фактори от левкоцитите и фибринолитични фактори от туморните клетки. Плазминогенът се активира и от екзогенно внесени вещества – стрептокиназа, урокиназа, които се използват и за лечение.

Главен регулатор на плазминогеновата активност е PAI-1 (инхибитор на плазминогеновия активатор), синтезиран от ендотелни, гладкомускулни клетки, фибробласти, туморни клетки [6].



Фиг. 4

Плазминът (фибринолизинът) е протеаза, разграждаща фибрина и други плазмени протеини (хормони, антитела, фактори на комплемента). Плазминът има способност да активира други ензимни системи – каликреин-кининова, колагеназна и др. Участва в метастазирането на туморни клетки. Фибринолизинът разгражда фибриноген и фибрин, при което се получават фибрин-деградационни продукти (ФДП). Те биват ранни – фрагмент X и Y, и късни фрагменти - D и E. При нормални условия плазминът (фибринолизинът) не разгражда фибриногена, тъй като е свързан с антиплазмин. В контакт с фибрин комплексът плазмин-антиплазмин се разпада и фибринът се разгражда. При разграждането на неразтворим фибрин (I) крайните продукти са D и E. Димери между два D-фрагмента са познати като D-димери. ФДП са разтворими и имат антикоагулантни свойства. Образуват се в процеси, при които и съсирването, и фибринолизата са активирани – ДИК синдром.

При патологични условия или при терапевтично приложение плазминът разгражда фактор V, VIII и активира фактори XII и VII [7].

Белтъци в серума и реакционни продукти, получени след активирането на тромбина са: TAT (тромбин-антитромбин III комплекс), протромбинови фрагменти (F1 + 2), FM (фибрин мономер), DD (D-димер), PAP (плазмин-антиплазмин комплекс). Изследват се с чувствителни имунохимични методи.

Фибринопептид А (FPA) е първият продукт, който се освобождава от фибриногена в присъствие на тромбин. Той е малък пептид и не участва в процесите на съсирване. Показател е за повишена съсирваемост, повишен тромботичен риск, съмнение за ДИК синдром.



Фиг. 5. Образуване и разграждане на фибрина. Генериране на фибрин-деградационни продукти (FDP) и D-димери

Фибриновите мономери (FM) са продукт от действието на тромбина върху фибриногена. Полимеризират линейно и се превръщат в разтворим фибрин – фибрин S. Те са показател за активирано съсирване.

D-димер (DD) е един от най-ранните тестове за доказване на образуване на фибрин, тъй като фибринолизата *in vivo* стартира едновременно с фибринообразуването. Повишаването на DD е индикатор за натрупване на фибрин, което показва риск от развитие на тромбоза. DD е показател за развитие на ДИК синдром. Счита се за по-надежден маркер в сравнение с ФДП. При лечение на ДИК с хепарин DD бързо се понижава. Тестът се използва за проследяване на ефекта от терапията. Изследването на DD е подходящо и при контрола на фибринолитичната терапия. Стойностите за DD могат да бъдат покачени при диабет и атеросклероза (поради увреда на ендотела), венозни тромбози (тромбофлебити, белодробна емболия), тумори (туморната тъкан е покрита с фибрин – източник на ФДП и DD [4].

Таблица 4. Лабораторни тестове, даващи информация за плазмените фактори на съсирване

Пресяващи тестове	PT, aPTT, TT
Факторни тестове	Фактори от I до XII, представени като активност или като концентрация
Маркери на активирано съсирване	PF1 + 2, фибрин мономер, фибринопептид А, ТАТ, скъсяване на aPTT, скъсяване на TT, понижение на AT III, Pr C, намаляване на тромбоцитите
Инхибитори на съсирването	Антитромбин III (инхибира факторите II, IX, X, XI, XII), протеин С (инхибира факторите V, VIII), протеин S (кофактор на протеин С), протеин Z (инхибира фактор X), TFP1 (инхибитор на пътя на тъканния фактор)
Фибринолиза	Пресяващи тестове – TT Активатори на фибринолиза – плазминоген, плазмин, t-PA (тъканен плазминоген активатор) Инхибитори – PAI (инхибитор на плазминогеновия активатор), антиплазмин, α2-макроглобулин, TAFI (тромбин-активиран инхибитор на фибринолизата) Маркери за фибринолиза – плазмин – α2-антиплазмин, ФДП, DD, фибриноген

ЛАБОРАТОРНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА ХЕМОСТАЗАТА

Фазови и факторни тестове

Фазите на съсирване могат да се обобщят в следния ред:

– Фаза, в която действа вътрешната (ендогенната) система на коагулацията. Основните фазови тестове за изследване на ендогенната система са парциално тромбoplastиново време (PTT) и активираното парциално тромбoplastиново време (aPTT).

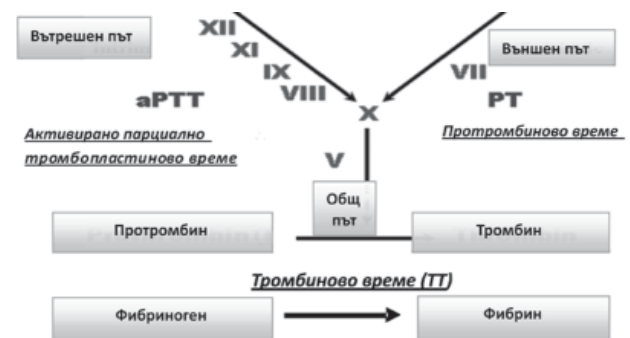
– Фаза, в която действа външната (екзогенната) система на коагулацията. Основен фазов тест е протромбиново време (PT).

– Фаза, в която фибриногенът се превръща във фибрин. Основен тест е тромбиновото време (TT).

– Фаза, в която екзогенната и ендогенната система се събират в общ краен път. Основен фазов тест е протромбиново време (PT).

– Резултатите от изследването за протромбиновото време може да се представят в секунди (s), проценти (%) и като INR (International Normalized Ratio). При лечение с противосъсирващи медикаменти (антикоагуланти) резултатите се представят чрез INR.

За изследване на отделните фактори на съсирването има два подхода. Активността на даден фактор се проверява чрез тестовете за отделните фази на кръвосъсирването. Антихемофилният глобулин фактор VIII е основен компонент на вътрешната система на съсирването. Изследвайки вътрешната система чрез съответните фазови тестове, се придобива представа за количеството и активността на фактор VIII. Точното количество на даден фактор се изследва с количествени химични и имунологични методи. Тъй като голяма част от плазмените фактори са ензими, може да се окаже, че количеството им е в норма, но активността им е намалена [8].



Фиг. 6. Външен, вътрешен и общ път на съсирване. Лабораторни фазови тестове

Таблица 5. Фактори, участващи в системата на кръвосъсирване и фибринолиза

Първична хемостаза	Фактор на фон Вилебранд
Вътрешен път на кръвосъсирване	Високомолекулярен кининоген (ВМК), брадикинин, каликреин, фактор XII "Хагеман", фактор XI, фактор IX, фактор VIII
Външен път на кръвосъсирване	Фактор III (тъканен фактор), фактор VII
Общ път на кръвосъсирване	Фактор X, фактор V, фактор II - протромбин, фибрин, фактор XIII
Коагулационни инхибитори	Антитромбин (инхибира факторите II, IX, X, XI, XII), протеин С (инхибира факторите V, VIII), протеин S (кофактор на протеин С), Протеин Z (инхибира фактор X), TFP1 (инхибитор на пътя на тъканния фактор)
Тромболиза/фибринолиза	Плазмин, tPA (активатор на тъканния плазминоген), урокиназа, PAI-1 (инхибитор на плазминоген активатора – 1), PAI-2 (инхибитор на плазминоген активатора – 2), α2-антиплазмин, α2-макроглобулин, TAFI (тромбин-активиран инхибитор на фибринолизата)

ХРОНОМЕТРИЧНИ, ХРОМОГЕННИ И ИМУНОЛОГИЧНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА КООГУЛАЦИЯ

Кръв за изследване на хемостаза се взема с антикоагулант цитрат. За избягване на грешки в преданалитичния етап от съществено значение е правилното съотношение антикоагулант–количество кръв. Това трябва да се има предвид при използване на вакуумтейнери, при които вакуумът не е достатъчен и епруветките не се пълнят до съответното ниво. Кръвта за изследване на кръвосъсирване е годна до 2 часа след вземането ѝ. Ако пробата няма да се работи веднага, тя да се центрофугира и цитратната плазма се съхранява при 4°C.

При изследване на коагулацията най-често използваните методи са основани на хронометричен, имунологичен и хромогенен принцип [1].

НАРУШЕНИЯ, БЛАГОПРИЯТСТВАЩИ РАЗВИТИЕ НА ТРОМБИ

Тромбофилията е състояние на смутена хемостаза, свързано с повишен риск от поява на тромбоза или тромбоемболия [3].

Причините за тромбофилия могат да се дължат на:

- Дефицит на физиологични антикоагуланти – Pr C и Pr S, AT III
- Намалена естествена фибринолитична активност – намалено образуване на в t-PA, дефекти в плазминогена, повишение на PAI
- Антифосфолипидни антитела
- Наличие на метаболитни нарушения – диабет, атеросклероза, хиперхомоцистеинемия
- Повишена концентрация и активност на фактори на съсирването – хиперфибриногенемия, криофибриногенемия.

Изследват се маркери на активирано съсирване – тромбоцитен фактор 4, бета-тромбоглобулин, антитромбин III, DD, фибринопептид А и В, фибрин мономер, фибрин-деградационни продукти, DD.

Фибрин мономер е показател за съсирване. Негов субстрат е фибриноген, ензимът, който го разгражда е тромбин, а получените продукти от ензимното действие – фибрин мономер, фибринопептид А и В.

ФДП, DD са показатели на фибринолиза. При фибринолизата субстратът може да е фибриноген и фибрин, ензимът който ги разгражда е плазмин, а продуктите на ензимното действие са фрагментите – X, Y, D, E, DD.

Таблица 6. Нарушения, водещи до тромбофилия

Съдови нарушения	Атеросклероза, васкулити, травми, антифосфолипидни антитела, чужда повърхност – клапни протези, стентове
Нарушения в тромбоцитите	Тромбоцитоза, миелофиброза, захарен диабет, дислипидемия, бременност, орални контрацептиви
Нарушения в кръвосъсирването	Повишени фактори на кръвосъсирване, антифосфолипидни антитела, злокачествени тумори, сепсис, травми, бременност, контрацептиви
Нарушения във фибринолизата	Генетични дефекти в t-PA, дефекти в плазминогена, повишение на PAI, васкулити, бременност, контрацептиви
Нарушения в инхибиторите на кръвосъсирването	Дефицит на AT III, HC II, Pr C/S, TFPI. Генетични дефекти в молекулите на Pr C и Pr S, AT III, фактор V на Лайден
Нарушена реология на кръвта	Полицитемия, хипервискозитет, сърдечна недостатъчност (застой), имобилизация (стаза)

ДИК СИНДРОМ

Това е състояние, при което има активирано съсирване, водещо до изчерпване на факторите на съсирване, с последващо активиране на фибринолизата. Тъй като продуктите на фибринолизата имат противосъсирващ ефект, болният кърви [11].

Първа фаза – активиране на съсирването. Наблюдава се повишено ниво на маркерите за активиране – PF 1 + 2, фибрин мономер, фибринопептид А, ТАТ, скъсяване на aPTT, скъсяване на TT, понижено на AT III, Pr C, намаляване на тромбоцитите.

Втора фаза – консумация и изчерпване на факторите на съсирването. Наблюдава се удължено PT, aPTT, TT, тромбоцитопения, понижен фибриноген, намаление на факторите на съсирване – II, V, VII, VIII, X, XIII, наличие на ФДП.

Трета фаза – реактивна фибринолиза. Наблюдава се понижен фибриноген, повишени ФДП, DD, удължено PT, aPTT, TT, тромбоцитопения.

ЛАБОРАТОРЕН КОНТРОЛ НА ЛЕЧЕНИЕ С АНТИКОАГУЛАНТИ

Използваните в клиничната практика антикоагуланти се разделят на няколко групи: инхибитори на тромбоцитите, индиректни инхибитори на тромбина (антикоагулантното действие е

Таблица 7. Антикоагуланти, принцип на действие, лабораторен контрол

Група антикоагуланти	Принцип на действие	Лабораторен контрол
<p>Индиректни инхибитори на тромбина</p> <p>Парентерални: високомолекулен хепарин (м. тегло – 15 кДа) Нискомолекулен хепарин (м. тегло – 5 кДа)</p> <p>Синтетични аналози (фондапаринукс, идрапаринукс – синтетични инхибитори на фактор Ха)</p>	<p>Антикоагулантното действие е опосредствано от антитромбин III. Блокират се фактори II, IX, X, XI, XII</p>	<p>Лечението се мониторира основно от aPTT. За достигане на терапевтична област aPTT трябва да се удължи 1,5-2,5 пъти в сравнение с референтната стойност. При започване на лечение – контрол на 6 часа. При достигане терапевтична област – веднъж дневно.</p> <p>Може да се изследва лекарствено ниво на хепарин в плазмата или да се определи количествено фактор X.</p> <p>Лечението със синтетични аналози не изисква лабораторен контрол</p>
<p>Директни инхибитори на тромбина</p> <p>Парентерални – хирудин, хирулог, лепирудин, бивалирудин</p> <p>Орални – дабигатран, ксимелагатран (спрян от приложение)</p>	<p>Свързват се с активния център на тромбина</p>	<p>Действието на парентералните инхибитори се следи чрез aPTT, екариново време на съсирване, активирано време на съсирване</p> <p>Оралните инхибитори на тромбина не изискват непрекъснат лабораторен контрол. В условия на спешност aPTT, TT</p>
<p>Антагонисти на вит. К</p> <p>Орални – аценокумарол, варфарин</p>	<p>Инхибират витамин К-зависимите фактори – фактори II, VII, IX, X, protein C, protein S</p>	<p>Лабораторен контрол чрез PT, изразено в INR. Терапевтичната област е INR между 2-4. В началото на лечението INR се следи всеки ден или 4-5 пъти седмично. При установяване на терапевтична доза – един път месечно</p>
<p>Инхибитори на фактор Ха</p> <p>ривароксабан, аписаван, едоксабан, бетриксабан</p>	<p>Инхибитори на фактор Ха</p>	<p>Лабораторен контрол чрез PT, aPTT. Директно определяне на фактор X чрез хромогенни тестове.</p> <p>Не се изисква непрекъснат амбулаторен контрол</p>
<p>Фибринолитици – стрептаза, алтеплаза, тенектеплаза, ретеплаза, урокиназа</p>	<p>Активатори на плазминогена Рекомбинантен плазминогенов активатор</p>	<p>Лабораторен контрол чрез PT, aPTT, TT, ФДП, DD</p>

опосредствано от антиромбин III) – хепарин, директни инхибитори на тромбина, антагонисти на витамин К, инхибитори на фактор X [5].

При започване на антикоагулантно лечение се изследват следните лабораторни показатели: PT, aPTT, тромбоцити, кръвна картина.

Голяма част от антикоагулантите се елиминират през бъбреците. Проследяването на бъбречната функция включва контрол на креатинин и гломерулна филтрация.

Черният дроб е основен орган за синтеза на фактори на съсирване [2]. Проследяването на чернодробната функция включва изследване на АСАТ, АЛАТ, ГГТ, албумин, билирубин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клиниколабораторните методи за изследване на хемостазата включват методи за изследване първична и вторична хемостаза, инхибитори на съсирването, фибринолиза и тромбофилия. Те се използват за поставяне на диагноза на хеморагични диатези, тромботични заболявания, както и при терапия с антикоагуланти и фибринолитици.

Библиография

1. Икономова, К. Инструментални методи в клиничната лаборатория. С., 2012.
2. Пенев, М. и П. Дукова. Лабораторна хематология. С., 2007.

3. Bertina, R. M. The role of procoagulants and anticoagulants in the development of venous thromboembolism. – *Thromb. Res.*, **123**, 2009, Suppl. 4, 41-45.
4. Boisclair, M. D., D. A. Lane et J. T. Wilde. A comparative evaluation of assays for markers of activated coagulation and/or fibrinolysis: thrombin–antithrombin complex, D-dimer and fibrinogen/fibrin fragment E. – *Br. J. Haematol.*, **74**, 2008, № 4, 471-479.
5. Borensztajn, K. et C. A. Spek. Blood coagulation factor Xa as an emerging drug target. – *Exp. Opin Ther. Targets*, **15**, 2011, № 3, 341-349.
6. Cesari, M., M. Pahor et R. A. Incalzi. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): A key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. – *Cardiovasc. Therap.*, **28**, № 5, 72-91.
7. Cox, S. Coagulation factors-attributes and future directions. – *Thromb. Haemost.*, **102**, 2009, № 3, 505-510.
8. Favaloro, E. J. et G. Lippi. Laboratory testing of anticoagulants: the present and the future. - *Pathology*, **43**, 2011, № 7, 682-692.
9. Kempton, C. L. et al. Platelet heterogeneity: variation in coagulation complexes on platelet subpopulations. – *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **25**, 2005, № 4, 861-866.
10. Kranjc, A. et D. Kikelj. Inhibitors of the blood coagulation enzymes. – *Curr. Med. Chem.*, **11**, 2004, № 19, 2535-2547.
11. Levi, M. DIC: Which laboratory tests are most useful. - *Elsevier*, **25**, 2011, № 1, 33-37.
12. Lippi, G., E. J. Favaloro et M. Franchini et G. C. Guidi. Milestones and perspectives in coagulation and hemostasis. – *Semin. Thromb. Hemost.*, **35**, 2009, № 1, 9-22.
13. Mann, K. G. et al. Models of blood coagulation. - *Blood Cells Mol. Dis.*, **36**, 2006, № 2, 108-117.
14. Morel, O. et al. Platelet microparticles and vascular cells interactions: a checkpoint between the haemostatic and thrombotic responses. – *Platelets*, **19**, 2008, № 1, 9-23.
15. Panteleev, M. A., M. V. Ovanesov et D. A. Kireev. Spatial propagation and localization of blood coagulation are regulated by intrinsic and protein C pathways, respectively. – *Biophys. J.*, **90**, 2006, № 5, 1489-1500.
16. Piazza G., J. Fanikos et M. Zayaruzny. Blood coagulation, fibrinolysis and cellular haemostasis. – *Thromb. Haemost.*, **102**, 2009, № 3, 505-510.
17. Preissner, K. T. Physiology of blood coagulation and fibrinolysis. – *Hamostaseologie*, **28**, 2008, № 5, 259-271.
18. Riddel, J. P. et al. Theories of blood coagulation. – *J. Pediatr. Oncol. Nurs*, **24**, 2007, № 3, 123-131.

✉ Адрес за кореспонденция:
 Проф. д-р Красимира Икономова
 Национална многопрофилна транспортна болница
 Бул. „Княгиня Мария Луиза“ № 108
 1202 София
 e-mail: ikonovak@yahoo.com



ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА
Отдел Научна медицинска информация

ПРЕДЛАГА

СТИЛОВА РЕДАКЦИЯ
КОРЕКЦИЯ
И ФОРМАТИРАНЕ
НА МЕДИЦИНСКИ ТЕКСТОВЕ

ХУДОЖЕСТВЕНО И ТЕХНИЧЕСКО ОФОРМЛЕНИЕ

Централна медицинска библиотека
 1431 София, ул. "Св. Г. Софийски" № 1
 тел./факс 952 23 93