

Ельчанинова Т.И., Радченко В.В.

Тромбоэластография при исследовании системы гемостаза

Днепро́вский Государственный Медицинский Университет

Система гемостаза обеспечивает поддержание жидкого состояния крови в здоровом организме, остановку кровотечения при повреждении целостности сосудистой стенки и растворение тромбов, выполнивших свою функцию. Основными морфологическими компонентами системы гемостаза являются: сосудистая стенка, форменные элементы крови, плазменные и сывороточные факторы свертывания крови. Процесс гемостаза реализуется за счет первичного (сосудисто-тромбоцитарного) и вторичного (коагуляционного) звеньев.

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз включает следующие фазы: временный сосудистый спазм, адгезия и агрегация тромбоцитов, в результате которых формируется тромбоцитарная пробка и ретракция образовавшегося тромбоцитарного тромба.

Участие тромбоцитов в процессе гемостаза реализуется по следующей схеме (Vermylenetal 1983):

- повреждение сосудистой стенки;
- адгезия тромбоцитов и взаимодействие плазменных полимеров VIII и фактора Виллебранда; активация мембранных рецепторов;
- изменение формы тромбоцитов и их агрегация;
- активация тромбоцитов опосредуется через метаболизм арахидоновой кислоты; увеличение содержания свободных ионов кальция; высвобождение содержимого гранул; образование необратимого агрегата; «флип-флоп»-превращение наружной мембраны ускоряет реакции каскада свертывания.

Коагуляционный гемостаз реализуется в три стадии:

- формирование протромбиназы;
- образование тромбина;
- формирование фибринового сгустка.

Первая стадия коагуляционного гемостаза осуществляется через внешний и внутренний пути формирования протромбиназы. Она имеет каскадный механизм, что означает как многократное усиление ответа на первичный сигнал, так и строгую последовательность течения всего цикла реакций, когда продукт одной реакции служит катализатором другой.

Условно выделены «внешний путь» образования протромбиназы, имеющий защитный характер при травме сосуда и «внутренний путь», который имеет многочисленную активацию и поэтому любые патологические состояния могут дать ему пусковой импульс. Фактором, объединяющим и тот, и другой путь является необходимость участия в каскаде фосфолипидных мицелл и ионов кальция. Белковыми участниками внешнего пути являются факторы VII, IX, X и II (протромбин).

Основным источником фосфолипидов внутреннего пути являются тромбоциты и эндотелиоциты. Активаторами белковых участников этого пути (факторов XI и XII) – являются чужеродные поверхности, циркулирующие иммунные комплексы, калликреин-кининовая система, токсины, антифосфолипидные антитела и др. Независимо от начальной фазы оба пути затем объединяются в общий каскад, который катализируют факторы VII и V. Следующим этапом коагуляционного гемостаза является превращение неактивного протромбина (II) в активный тромбин (IIa), а затем образование фибрин-мономера, его полимеризация и образование растворимого, а затем нерастворимого фибрина, который является основой кровяного сгустка.

Определение показателей, характеризующих гемостаз, имеет большое значение в диагностике различных заболеваний: сердечно-сосудистой, акушерской и генетической патологии, системных заболеваний, болезней крови и др. Кроме того, коагуляционным тестам отводится важное место в профилактике осложнений во время и после оперативных вмешательств, что обуславливает широкое применение данных исследований в клинике.

Лабораторные методы исследования коагуляционных тестов делятся на:

- клоттинговые или хронометрические, в основе которых лежит регистрация времени образования фибринового сгустка (АЧТВ, ПВ);
- тесты, основанные на использовании хромогенных субстратов, при которых регистрируется время гидролиза пептидного субстрата (определение активности антитромбина III, гепарина, плазминогена, протеина С, анти-Ха);
- иммунологические методы, основанные на определении концентрации исследуемых факторов свертывания с помощью моноклональных антител (определение концентрации гомоцистеина);
- генетические методы направлены на выявление мутации генов, определяющих синтез определенных факторов свертывания, фибринолиза и других компонентов процесса гемокоагуляции.

Все указанные методы широко используются для оценки состояния системы гемостаза и диагностики нарушений. Основным недостатком этих методов является то, что они характеризуют лишь отдельные звенья процесса коагуляции, а это не всегда полно отражает состояние свертывающей системы в целом.

Так, клоттинговые тесты не оценивают динамику образования и качество (плотность) фибринового сгустка, динамические свойства кровяных пластинок и состояние плазминовой системы. В лабораторной практике большинство аппаратов для исследования системы гемостаза основаны на клоттинговых тестах.

Известно, что выполнение коагуляционных тестов занимает довольно много времени, требует наличия и подготовки большого количества реактивов, центрифугирования венозной крови и т.д. Кроме того, при взятии крови для выполнения коагулограммы необходимо учитывать показатель гематокрита пациента и при его нарушении рассчитывать соотношение крови и стабилизатора.

Однако перед врачом нередко возникает вопрос о необходимости получения информации о состоянии системы гемостаза более быстрым, но в то же время надежным методом, позволяющим адекватно оценить гемокоагуляцию с целью диагностики наиболее распространенных видов патологии и формирования групп риска. Исходя из этого, использование тромбоэластографии (ТЭГ) является более удобным и быстрым методом, который достоверно отражает состояние гемостаза.

Нами исследовано состояние системы гемостаза методом ТЭГ у женщин при сердечно-сосудистых заболеваниях, язвенной болезни желудка, аномальных маточных кровотечениях и при физиологическом течении послеродового периода.

Исследования проводили на тромбоэластографе используя как цельную кровь, так и стабилизированную.

ТЭГ – это графическая запись процесса свертывания крови, которая характеризует динамику формирования кровяного сгустка при температуре 37°C. Венозная кровь помещается в кювету тромбоэластографа и в неё опускается датчик цилиндрической формы. Если невозможно было провести исследование немедленно, мы использовали стабилизированную кровь или плазму. В таких случаях проводили рекальцификацию добавлением раствора кальция хлорида 0,2 моль/л.

Принцип работы прибора заключается в регистрации амплитуды колебаний цилиндра, помещенного в кювету с кровью или плазмой. Цилиндр совершает вращательные движения вокруг своей оси. Пока кровь жидкая, цилиндр остается неподвижным, что соответствует прямой линии на тромбоэластограмме. По мере формирования нитей фибрина движение цилиндра затрудняется, и с увеличением эластичности сгустка пишущее устройство регистрирует угол поворота цилиндра и на бумажной ленте наблюдается расхождение ветвей тромбоэластограммы.

Анализ тромбоэластограмм. После окончания записи для оценки состояния гемокоагуляции мы рассчитывали следующие основные параметры: R, K, MA, T.

R - время реакции - высчитывается от начала записи ТЭГ до той точки, где ее ветви расширяются на 1 мм, плюс время от момента наполнения кюветы кровью до включения аппарата. Этот промежуток времени соответствует периоду формирования протромбиназы.

K - время образования сгустка - от конца времени реакции (R) до расширения ветвей ТЭГ на 20 мм., соответствует времени образования тромбина и началу формирования фибринового сгустка. Чем активнее тромбинообразование, тем короче время образования сгустка (K), тем быстрее формируется сгусток.

MA - максимальная амплитуда – определяется в миллиметрах, измеряется по максимальной амплитуде в месте наибольшего расхождения ветвей тромбоэластограммы, когда объем, плотность и эластичность сгустка становятся максимальными. На величину MA влияют концентрация фибриногена, а также количество и динамические функции (адгезия, агрегация) тромбоцитов. При резком снижении числа тромбоцитов и их функции или выраженной гипофибриногемии MA уменьшается.

T - константа тотального свертывания крови - высчитывается по расстоянию от начала записи ТЭГ до максимального расширения ее ветвей (MA). Этот показатель характеризует все стадии свертывания крови.

Установлены референтные величины для показателей тромбоэластограммы:

Для цельной крови: R=4-8 мин; K=2-4 мин; MA=55-80 мм; T=6-12 мин.

Для стабилизированной крови: R=3,2-5 мин; K=2-6 мин; MA=45-75 мм; T=5-12 мин.

Рис.1. Схема тромбоэластограммы и её основные константы: R, K, T и MA

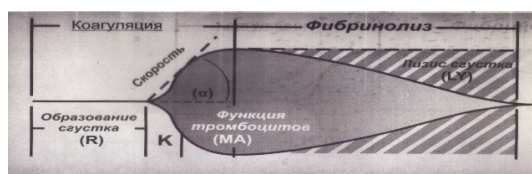


Рис. 2. Тромбоэластограмма здорового человека: основные константы в пределах референтных величин.

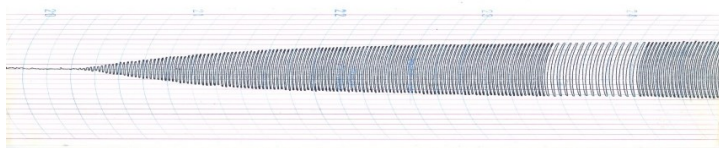


Рис.3. При геморрагических гемостазиопатиях отмечается увеличение констант **R, K, T** и уменьшение **МА**.

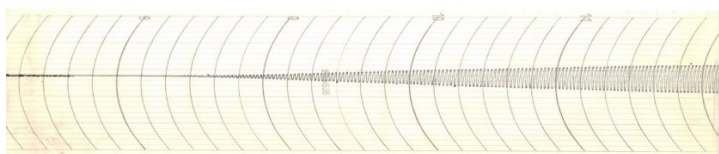


Рис.4. При тромбофилических состояниях отмечается уменьшение констант R, K, T и увеличение МА.

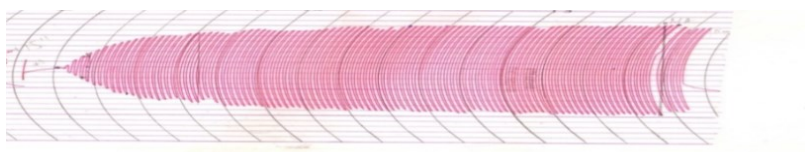
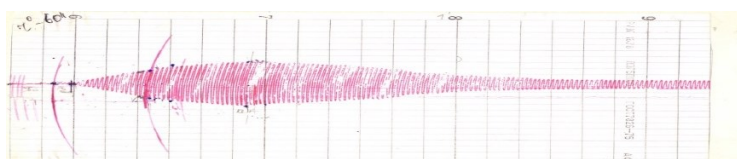


Рис.5. На данной ТЭГ отмечается резкая активация фибринолитической активности – после достижения максимальной амплитуды (МА) она быстро снижается, т.е. сгусток подвергается лизису.



Таким образом, исследование системы гемостаза методом тромбоэластографии имеет ряд преимуществ. Прежде всего - компактные размеры прибора позволяют расположить его в непосредственной близости от больного: рядом с операционной, родовым залом или в любом кабинете. Метод прост в применении и исследование может выполнить врач, не имеющий специального лабораторного образования. Постановка пробы

занимает всего 1 минуту, а результат исследования готов уже через 15-25 минут. Этот метод позволяет оценить состояние системы гемостаза в целом, также как и итоговое влияние препаратов на неё. Современные тромбоэластографы позволят врачу выявить ранние признаки гиперкоагуляции и гипокоагуляции, диагностировать нарушения агрегации тромбоцитов, оценить эффективность антикоагулянтной и антиагрегантной терапии и принять обоснованное решение о целесообразности назначения антифибринолитической терапии.

Литература

1. Кузник Б.И., Стуров В.Г., Максимова О.Г. Геморрагические и тромботические заболевания и синдромы у детей. - Новосибирск, «Наука». - 2012.-455С.
2. Кузник Б.И., Масимова О.Г. Клиническая гематология детского возраста. М., «Вузовская книга». -2010.-496С.
3. Меньшиков В.В. Клиническая лабораторная аналитика. Том 3. М., Лабпресс. -2000.-284С.
4. Мельник Александр. Нарушение системы гемостаза при сепсисе. Лабораторна справа. -№1, 2019.-с.31-40.
- 5.Руководство по гематологии в 3 т. Т3. Под ред. А.И. Воробьева. 3-е изд. Перераб. и дополн. М.: Ньюдиамед: 2005.-416с.
6. Ярец Ю.И. Тромбоэластография: основные показатели, интерпретация результатов. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ.» - 2018. - 26с.