

ОГЛАВЛЕНИЕ

Сведения об авторах.....	7
Список сокращений и условных обозначений.....	9
Предисловие.....	11
Глава 1. Современные представления о физиологии гемостаза (М.А. Пантелеев).....	15
1.1. Система гемостаза.....	15
1.2. Тромбоцитарный гемостаз.....	17
1.3. Свертывание крови.....	25
1.4. Фибринолиз.....	32
Заключение.....	34
Глава 2. Современные методы оценки гемостаза (И.Н. Пасечник, А.Б. Косырев).....	36
2.1. Клинические методы оценки гемостаза.....	36
2.2. Лабораторные методы оценки гемостаза: общие принципы.....	38
2.3. Интегральные (глобальные) методы исследования гемостаза.....	44
2.4. Исследование сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.....	61
2.4.1. Исследование агрегации тромбоцитов.....	64
2.5. Исследование плазменно-коагуляционного гемостаза.....	70
2.6. Исследование противосвертывающей системы крови (физиологических антикоагулянтов).....	75
2.7. Исследование фибринолитической активности крови.....	79

2.8. Маркеры активации системы гемостаза.....	83
2.9. Принципы лабораторной оценки антитромботической терапии (А.Б. Косырев).....	88
2.9.1. Методы лабораторного контроля.....	90
2.9.2. Импедансная агрегометрия.....	91
2.9.3. Система агрегометрии VerifyNow.....	91
2.9.4. Тромбоэластографический Platelet Mapping.....	92
2.9.5. Анализатор PFA-100.....	93
2.9.6. Контроль за терапией оральными антикоагулянтами.....	94
2.9.7. Контроль за терапией прямыми оральными антикоагулянтами.....	94
2.9.8. Лабораторный контроль за гепаринотерапией.....	95
2.9.9. Контроль терапии нефракционированным гепарином.....	97
2.9.10. Контроль терапии низкомолекулярными гепаринами.....	97
Глава 3. Лекарственные средства, влияющие на систему гемостаза: точки приложения (И.Н. Пасечник, С.А. Бернс).....	99
3.1. Антикоагулянты.....	100
3.1.1. Парентеральные прямые антикоагулянты.....	100
3.1.2. Оральные непрямые антикоагулянты.....	111
3.1.3. Прямые оральные антикоагулянты.....	117
3.2. Антиагреганты.....	134
3.3. Лекарственные средства, влияющие на систему фибринолиза.....	138
3.3.1. Тромболитики.....	138
3.3.2. Ингибиторы фибринолиза.....	140
3.4. Препараты факторов свертывания крови.....	141
3.5. Другие группы препаратов.....	144

Глава 4. Хирургическое вмешательство и коморбидный больной: что нужно знать клиницистам о гемостазе? (С.С. Мурашко).....	145
Глава 5. Хирургическая операция и система гемостаза (А.Ю. Буланов).....	163
Глава 6. Кардиохирургические вмешательства и гемостаз (Е.З. Голухова, М.М. Рыбка, Е.А. Рогальская).....	176
Глава 7. Вентромбоэмболические осложнения у хирургических больных: профилактика и лечение (О.М. Драпкина, С.А. Бернс).....	197
7.1. Факторы риска и патогенез венозных тромбоэмболических осложнений.....	198
7.2. Профилактика венозных тромбоэмболических осложнений у хирургических больных.....	205
7.3. Ацетилсалициловая кислота (Аспирин [®]) для длительного лечения венозных тромбоэмболических осложнений.....	211
Глава 8. Тромбоэмболия легочной артерии (О.М. Драпкина, С.А. Бернс).....	212
8.1. Патогенез тромбоэмболии легочной артерии.....	213
8.2. Стратификация риска неблагоприятного исхода.....	214
8.3. Принципы лечения тромбоэмболии легочной артерии.....	219
8.4. Госпитальный этап.....	219
8.5. Основные принципы и продолжительность антикоагулянтной терапии на амбулаторном этапе.....	225
8.6. Контроль за эффективностью антикоагуляции и риском кровотечений.....	228
Глава 9. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (И.Н. Пасечник, В.В. Бояринцев).....	231

Глава 10. Новая коронавирусная инфекция и нарушения гемостаза (<i>И.Н. Пасечник, В.В. Бояринцев</i>).....	250
Заключение.....	265
Список литературы.....	266

дефицит плазменного протеина S предрасполагает к венозному тромбозу. Гетерозиготный дефицит протеина S похож на гетерозиготный дефицит протеина C по путям генетической передачи, распространенности, лабораторному тестированию, лечению и мерам предосторожности.

Гомозиготная недостаточность протеина S может привести к возникновению молниеносной пурпуры у новорожденных, которая клинически не отличается от вызванной гомозиготной недостаточностью протеина C.

Снижение свободного протеина S наблюдается при врожденном дефиците, заболеваниях печени с нарушением ее синтетической функции, нефротическом синдроме, синдроме ДВС, некоторых системных заболеваниях (красной волчанке), лечении L-аспарагиназой, приеме непрямых АК, эстрогенов (оральные контрацептивы), во время беременности и в послеродовом периоде.

Повышенный уровень свободного протеина S обычно не связан с медицинской проблемой и считается клинически незначимым.

2.7. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ

Оценка ФАК является важным компонентом понимания причин возникновения тромбозов и кровотечений при различных клинических состояниях. Оценка ФАК проводится не во всех лабораториях. Это связано с недостаточной стандартизацией методики, ее длительностью и низкой специфичностью. Скринингового теста для оценки ФАК в настоящее время не существует. К тестам, позволяющим оценить состояние ФАК, кроме ранее описанной ТЭГ, относятся:

- время спонтанного лизиса эуглобулинового сгустка;
- время активированного лизиса эуглобулинового сгустка;
- определение содержания в плазме плазминогена;
- определение содержания в плазме t-РА;
- определение в плазме u-РА;
- определение содержания в плазме РАI-1;
- определение содержания в плазме ПДФ (см. раздел «Маркеры активации системы гемостаза») [26].

Долгое время для оценки интенсивности ФАК применяли тест времени спонтанного лизиса эуглобулинового сгустка по методике Ковальского [224]. Правильнее говорить о фибринолитической активности плазмы, так как метод основан на осаждении эуглобулиновой фракции белков плазмы, включающей плазминоген и его активаторы, фибриноген, факторы свертывания. Время лизиса эуглобулиновой фракции в норме составляет 180–240 мин. Укорочение времени свидетельствует об активации, а удлинение — об ослаблении фибринолиза. Однако в настоящее время этот тест выполняется в крайне ограниченном числе лабораторий. Этот тест отражает способность системы лизировать стандартный сгусток, однако в исследуемом образце нет большей части естественных ингибиторов фибринолиза, таких как антиплазмин, в несколько раз снижена концентрация фибриногена, поэтому специфичность и чувствительность этого теста весьма низкая.

Модификация этого теста — фактор XIIa-зависимый фибринолиз, предлагаемый рядом лабораторий, был разработан в 1970-х гг. [251]. Содержащиеся в плазме крови белки — калликреин и фактор XIa — могут активировать плазминоген. При этом оба этих белка, в свою очередь, активируются фактором XIIa (фактором Хагемана), образующимся в крови из своего неактивного предшественника при контакте с отрицательно заряженной поверхностью (контактная активация каолином). Как и в классическом тесте эуглобулинового времени лизиса, образец не содержит многих ингибиторов фибринолиза, более того, образование плазмина связано не только с активностью t-РА, но и с работой калликреин-кининовой системы, уровнем фактора XII, что очень сильно затрудняет интерпретацию результата. После описания методик оценки ФАК становится понятным, что клиницист вынужден ориентироваться на специфические тесты, характеризующие активность компонентов ФАК.

Плазминоген. Ферментом, непосредственно расщепляющим фибрин, является плазмин, который образуется из неактивного предшественника плазминогена. Плазминоген синтезируется преимущественно в печени, время его жизни составляет порядка двух дней [138]. Плазминоген является основным компонентом системы фибринолиза. Определение плазминогена исполь-

зуется при фибринолитической терапии и лечении пациентов с синдромом ДВС. Активация плазминогена в плазмин регулируется активаторами плазминогена тканевого (t-PA) и урокиназного (u-PA) типов, PAI-1 и PAI-2 и ингибиторами плазмина — α_2 -антиплазмином и α_2 -макроглобулином.

Референсные значения и результаты исследования. Нормальные значения плазминогена колеблются в пределах 75–140%. Активность плазминогена может повышаться при острых воспалительных реакциях (инфекционные заболевания, операции, травмы, онкология, ИМ и т.д.). Сообщается об увеличении концентрации плазминогена при беременности [41]. Роль фибринолитической системы крови в предупреждении тромбозов при физиологической беременности связана с необходимостью усиления ФАК в противовес нарастающему тромбогенному потенциалу.

Снижение содержания плазминогена наблюдается при заболеваниях печени вследствие нарушения его синтеза, при синдроме ДВС, длительном применении тромболитических препаратов.

t-PA и u-PA. *t-PA* — это сериновая протеаза, которая синтезируется и секретируется эндотелием сосудов преимущественно венозных отделов. Именно поэтому его также называют васкулярным активатором плазминогена [235]. Под влиянием t-PA профермент плазминоген превращается в активную форму — плазмин. Содержание t-PA в плазме чаще всего определяется методом иммуноферментного анализа. Концентрация циркулирующего t-PA в плазме составляет примерно 2–8 нг/мл. Около 95% циркулирующего t-PA входит в состав комплекса с PAI-1, следовательно, он находится в неактивном состоянии. t-PA уникален, поскольку его действие высокоспецифично по отношению к фибрину. Интересен тот факт, что t-PA, хотя и является ферментом, при отсутствии фибрина проявляет очень низкую активность по отношению к плазмину. При появлении фибрина начинается образование тройных комплексов с плазминогеном и фибрином, и активность t-PA возрастает примерно в 1000 раз [298]. Свободный t-PA и его комплексы с ингибиторами быстро удаляются из кровотока, связываясь с рецепторами эндотелиальных клеток и гепатоцитов. Время полувыведения составляет в норме около 3 мин. Эти обстоятельства являются определяющими факторами

возникновения фибринолитических кровотечений при трансплантации печени на стадии ее выключения из кровотока как следствие повышенной активации фибринолиза [286].

Сериновая протеаза (u-PA) — второй природный активатор пламиногена, на его долю приходится до 15% всего активирующего фибринолиз потенциала крови. Название связано с тем, что он впервые был выделен из мочи человека, однако впоследствии был обнаружен в различных тканях и органах, в том числе в крови и внеклеточном матриксе. Для определения используют иммуноферментный анализ. Содержание в крови составляет 2–4 нг/мл, в моче — 40–80 мкг/мл.

PAI-1 является ингибитором t-PA и u-PA. Основной вклад в синтез PAI-1 в организме вносят тромбоциты и эндотелиальные клетки. При формировании тромба активированные тромбоциты выбрасывают PAI-1, вследствие чего тромб становится резистентным к лизису. Это обстоятельство приводит к тому, что концентрация PAI-1 в плазме не отражает его реальную ингибирующую способность, так как большая часть PAI-1 высвобождается активированными тромбоцитами непосредственно в тромб [327].

Референсные значения PAI-1 при исследовании по антигену — 2–46 нг/мл, при исследовании активности — <31,1 МЕ/мл.

Повышенная активность PAI-1 наблюдается при воспалении, онкологических заболеваниях, ожирении, в послеоперационном периоде, диабете, атеросклерозе и атеротромбозе, беременности. Снижение уровня PAI-1 ассоциировано с тяжелыми кровотечениями [200].

α_2 -Антиплазмин — самый быстрый ингибитор пламина, он не позволяет пламину находиться в крови в свободном виде. На долю α_2 -антипламина приходится 90% ингибирования пламина *in vivo*, период полужизни пламина при наличии этого ингибитора составляет 100 мс. Помимо пламина, α_2 -антиплазмин ингибирует t-PA и u-PA.

Содержание α_2 -антипламина находится у взрослых в диапазоне 75–135%. Снижение содержания α_2 -антипламина в крови может быть как первичным (генетическим), так и вторичным. Первичный генетический дефицит α_2 -антипламина сам по себе не влияет на параметры гемостаза, коагуляцию и не проявляется фибринолитическими кровотечениями.

При фибринолитической терапии вторичный дефицит вследствие истощения запасов α_2 -антиплазмина сопровождается тяжелым геморрагическим синдромом. При этом основной причиной кровотечений является свободный плазмин, который способен лизировать тромбы и расщеплять фибриноген, факторы V и VIII.

2.8. МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Поддержание крови в жидком состоянии является результатом динамического равновесия свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем крови. Возникновение кровотечений или тромбозов свидетельствует о нарушении этого баланса. Однако в нормальных условиях постоянно происходит генерация следовых количеств тромбина с последующим образованием фибрина и его лизиса. Об этих процессах судят по так называемым маркерам активации гемостаза. При отклонении этих показателей от референсных значений можно вести речь о склонности к тромботическим или геморрагическим осложнениям. Также динамика маркеров гемостаза может быть полезна при оценке результатов антикоагулянтной и тромболитической терапии. Безусловно, часть показателей в силу сложности определения используется преимущественно в научных исследованиях.

Фибринопептид А. При взаимодействии тромбина с фибриногеном в первую очередь от молекулы последнего отщепляются два фибринопептида А. Важно подчеркнуть, что образование фибринопептида А невозможно при воздействии других протеолитических ферментов. *In vivo* фибринопептид А быстро удаляется из кровотока, период его полужизни составляет 3–5 мин. Именно поэтому концентрация фибринопептида А в крови отражает скорость его продукции под воздействием тромбина и, таким образом, уровень активации свертывающей системы крови. Нормальные значения фибринопептида А варьируют от 0,6 до 2,3 нг/мл.

Тромбин-антитромбиновый комплекс. Образуется при нейтрализации тромбина АТ III. Тромбин-антитромбиновый комплекс удаляется из кровотока в течение 10–15 мин, поэтому увеличение его содержания в крови свидетельствует о повышенной тромбинемии.

Фрагменты протромбина 1+2 (F1+2). Уровень F1+2 отражает активность превращения протромбина в тромбин под действием протромбиназы. Время полужизни F1+2 составляет около 90 мин, что позволяет использовать его как тест, также отражающий уровень тромбинемии.

Растворимые комплексы фибрин-мономера (РКФМ) — это высокомолекулярные комплексы продольноспитых молекул фибрин-мономера, образующиеся при воздействии тромбина на молекулу фибриногена, появляющиеся в плазме в период активации свертывания крови. Уровень РКФМ косвенно отражает интенсивность образования тромбина в крови. Для определения РКФМ в отечественных лабораториях в течение долгого времени использовали так называемые паракоагуляционные тесты (этаноловый, протамин-сульфатный, β -нафтоловый), а в настоящее время — ортофенантролиновый. В силу простоты выполнения и невысокой стоимости они широко используются в клинической практике для выявления лабораторных признаков активации гемокоагуляции. Вместе с тем все эти тесты обладают крайне низкой специфичностью и чувствительностью, так как отсутствуют калибраторы и контроль, и определяемый ими повышенный уровень РКФМ в крови тесно связан с возрастанием содержания фибриногена. Клиническая значимость результатов этих тестов как маркеров активации системы свертывания крови, особенно у больных, находящихся в критических состояниях, весьма ограничена.

В настоящее время существуют бесприборные экспресс-методы качественного и полуколичественного определения РКФМ на основе моноклональных антител «FM-test» и точного количественного определения РКФМ в крови с помощью иммунотурбидиметрического набора реагентов «LIA test FM» производства фирмы «Stago Diagnostica» (Франция). К сожалению, важным фактором, ограничивающим широкое применение этих тестов, является их относительно высокая стоимость.

ПДФ и D-димер. Маркером активации фибринолитической системы крови служат продукты расщепления фибрина плазмином. Стоит отметить, что сходные продукты распада образуются и при воздействии плазмина на фибриноген. ПДФ представ-

ляет собой суммарные значения содержания в крови продуктов лизиса фибрина и фибриногена плазмы. Ни один из доступных тестов на ПДФ не позволяет различить продукты расщепления, полученные из сшитого фибрина, от продуктов из фибриногена. Следовательно, анализу ПДФ недостает специфичности, поэтому данный показатель может возрастать при травме, недавней операции, воспалении, венозной тромбоземболии и многих других состояниях.

Вместе с тем определение ПДФ в моче показало хорошую диагностическую значимость при оценке отторжения почечного трансплантата [264, 321].

До разработки теста на D-димер определяли суммарные значения содержания в крови продуктов лизиса фибрина и фибриногена. Однако в диагностическом и лечебном плане важно различать, что больше подверглось расщеплению плазмином — фибриноген или фибрин [66]. При гидролизе фибриногена и фибрина формируются сходные продукты распада, однако из-за различий в структуре D-димер образуется только при расщеплении фибрина.

D-димер — это специфический продукт деградации фибрина, входящего в состав тромба. Он образуется в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмина. Повышение уровня D-димера говорит о том, что произошло повышенное образование фибрина, сопровождаемое фибринолизом. Таким образом, тест D-димер относится как к маркерам активации свертывания и фибринообразования, так и к маркерам активации фибринолиза. Период полужизни D-димера составляет примерно 8 ч.

В нормальных физиологических условиях около 2–3% фибриногена превращается в фибрин, который мгновенно подвергается фибринолизу. Именно поэтому D-димер в небольших количествах определяется у здоровых людей, с возрастом имеется тенденция к увеличению его концентрации [177, 325].

Для лабораторной диагностики уровня D-димера в настоящее время наиболее широко применяются следующие методы: микролатексная агглютинация, иммуноферментный анализ, иммунотурбидиметрия, иммунохроматография и иммунофлюорисценция.

Метод иммунотурбидиметрии для количественного определения D-димера получил наибольшее распространение ввиду воз-

возможности его использования в работе высокоскоростных автоматических анализаторов гемостаза. Однако в средних и малых лабораториях при отсутствии подобных анализаторов становится актуальным использование нового типа полуавтоматических коагулометров, позволяющих количественно определять как активность всех компонентов ФАК, так и содержание D-димера и ПДФ.

Одними из таких современных анализаторов являются приборы фирмы «Erba Lachema s.r.o.» (Чешская Республика) — одноканальный ECL 105 и четырехканальный ECL 412. Эти приборы обладают компактными размерами, интуитивно-понятным интерфейсом и цветным Touch Screen дисплеем.

Результаты исследований. При невозможности быстро доставить образец крови в лабораторию врачу важно знать время стабильности пробы крови. Содержание D-димера широко изучалось как в образцах плазмы, так и в цельной крови. Исследования показали, что D-димер стабилен в течение как минимум 24 ч (в плазме/цельной крови) при хранении при комнатной температуре или при температуре 2–8 °С, что позволяет отсрочить выполнение анализа [303].

Исследование D-димера в значительной степени зависит от используемых тест-систем. В 2013 г. в исследовании, где участвовало 3800 лабораторий, комитет по исследованию коагуляции Колледжа американских патологов обнаружил, что коэффициент вариации между методами достигал 42% [269].

Очень важно, чтобы лаборатория использовала клинически подтвержденные референсные значения D-димера, поскольку диагностический порог играет решающую роль в принятии клинических решений. Необходимо учитывать, что результат определения D-димера может быть выражен в двух единицах: FEU (фибриноген-эквивалентная единица) и DDU (D-димер эквивалентная единица), которые могут использоваться как взаимозаменяемые. Однако нужно помнить, что, поскольку FEU примерно в 2 раза превышает массу одного DDU, для сопоставления результатов значения DDU надо умножать на 2. Таким образом, нормальный уровень D-димера в единицах FEU будет 500 мкг/мл, а в единицах DDU — 250 мкг/мл. Определенные трудности для клинициста может представлять и разница единиц измерения результатов,

поскольку в лабораториях применяется до семи различных единиц измерения (например, нг/мл, мг/л, мкг/л, мкг/мл, г/л, г/мл и мг/дл) D-димера. Целесообразно использовать следующие единицы измерения D-димера — мкг/л или нг/мл, так как они в наибольшей мере соответствуют требованиям Международной системы единиц (СИ) [241].

Интерпретация результатов исследования. Повышение специфичности и чувствительности теста на D-димер было достигнуто в 80-х гг. прошлого столетия после внедрения методов, основанных на использовании моноклональных антител [325]. Также важным является правильная интерпретация анализа на D-димер в зависимости от возраста пациента.

Значения D-димера обычно увеличиваются параллельно со старением, что приводит к высокой доле пожилых пациентов с уровнем D-димера выше, чем стандартное пороговое значение — 500 мкг/мл FEU. Пороговое значение D-димера у пожилых пациентов рассчитывается по формуле:

$$\text{Пороговое значение D-димера с поправкой на возраст (мкг/мл FEU)} = \text{Возраст (годы)} \times 10 \text{ [241, 302].}$$

Востребованность определения D-димера была показана при идентификации пациентов с мезентериальным тромбозом. Рассчитанные чувствительность и специфичность составили соответственно 94 и 50% [317]. Обнаружение повышенного уровня D-димера у 88–94% пациентов со злокачественными новообразованиями подтверждает необходимость в дополнительных исследованиях в целях исключения у них венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) [132].

Комбинация определения D-димера и РКФМ позволила прогнозировать худшую выживаемость пациентов с септическим шоком [175].

Все же, несмотря на широкое применение исследования D-димера в клинической практике, нельзя не отметить, что основным недостатком является высокая вариабельность между различными иммунологическими анализами. Эта вариабельность объясняется тем, что D-димеры представляют собой широкую смесь продуктов расщепления поперечносшитого фибрина, ис-

пользованием различных моноклональных антител, отсутствием международных сертифицированных внутренних калибраторов, а также использованием различных единиц измерения. Необходимы дальнейшие исследования для стандартизации тестов D-димера между наборами различных производителей.

Активацию тромбоцитов в сосудистом русле (обычно это научные исследования) оценивают иммуноферментным методом путем определения уровня β -тромбоглобулина и фактора 4 тромбоцитов методом проточной цитометрии. Определение β -тромбоглобулина более надежно, так как фактор 4 быстро связывается с гликопротеинами эндотелия и выводится из циркуляции.

Таким образом, для суждения о состоянии системы гемостаза клиницисту необходимы данные анамнеза, клиническая картина и анализы. К скрининговым анализам чаще всего относят количество тромбоцитов, фибриноген, АЧТВ и ПВ/МНО. Дополнительные исследования выполняют при отклонениях в стандартном обследовании, наличии в клинической картине или анамнезе данных о тромботических и/или геморрагических проявлениях. Однако это идеальный вариант. Зачастую у больных в критическом состоянии не удается собрать анамнез, а лабораторная служба, особенно в ночные часы и выходные дни, не в состоянии помочь врачу в полной мере. В этих ситуациях ведущей становится клиническая картина, и лечащему врачу приходится опираться на свой опыт и реакцию организма пациента на проводимое лечение.

2.9. ПРИНЦИПЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ОЦЕНКИ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

А.Б. Косырев

Контроль за антитромботической терапией, как правило, подразумевает оценку эффективности нескольких препаратов, влияющих на различные компоненты системы гемостаза. Одной из составляющих комплексного лечения является антиагрегантная терапия. Наиболее часто назначаются следующие ЛС: