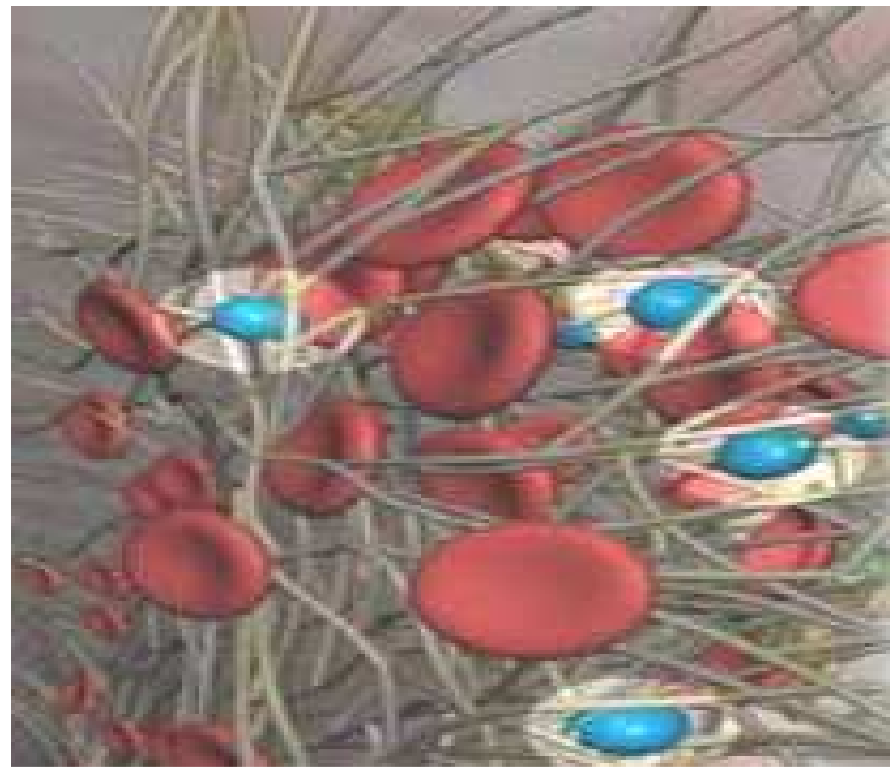

Современные лабораторные методы в оценке системы плазменного гемостаза

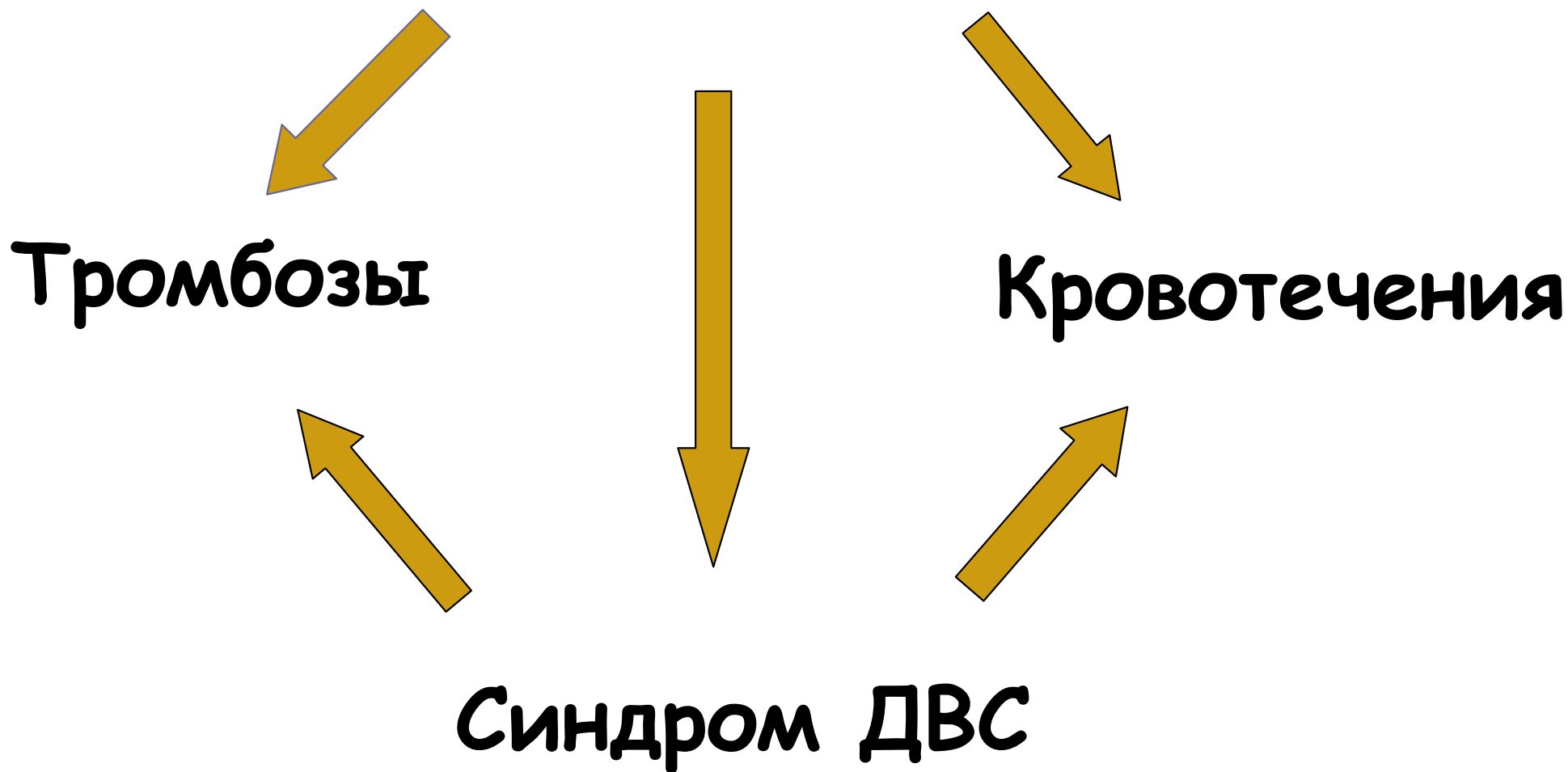
Кузнецова О.А.

21-22.09.2011

Владивосток



Нарушения системы гемостаза



Чем может лаборатория помочь врачу-клиницисту ?

Диагностика причин:

- ✓ Кровотечений
- ✓ Тромбозов

Контроль терапии

Устаревшие тесты

- Время лизиса эуглобулинов
- # Время рекальцификации плазмы
- # Этаноловый тест
- # Каолиновое время
- # Кефалиновое время
- # Хагеман-зависимый фибринолиз

Основные скрининговые тесты

Склонность к кровоточивости (гипокоагуляция)

- АЧТВ
- Протромбиновое время (ТВ) % по Квику

Склонность к тромбообразованию (гиперкоагуляция)

- D-димер

Растворимый фибрин?

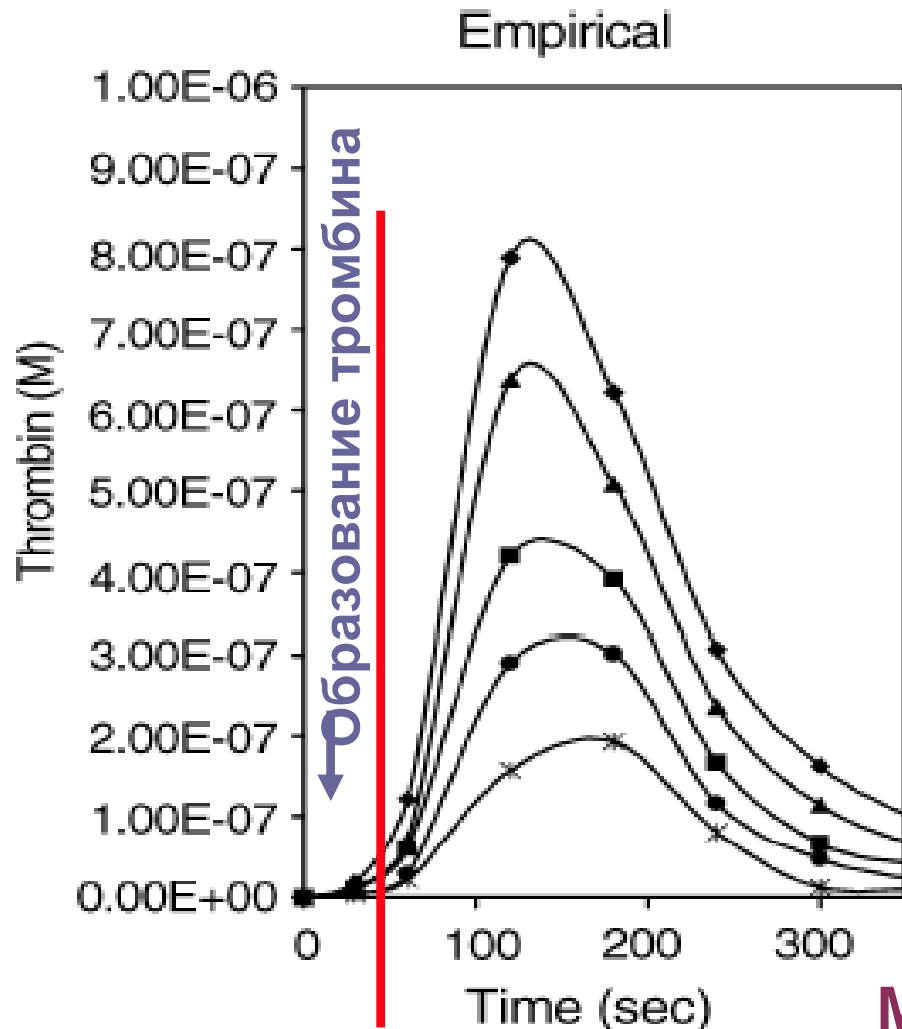
- Фибриноген
- Количество тромбоцитов

- Время кровотечения

- *Всероссийская Ассоциация по изучению тромбозов, геморрагии и патологии сосудов имени А.А. Шмидта — Б.А. Кудряшова*
- *Научное общество «Клиническая гемостазиология»*

Оценка результата ПВ, АЧТВ, ТВ

Тест генерации тромбина



- ✦ Все тесты, основанные на определении времени образования сгустка, регистрируют только начальную фазу образования тромбина (~5% от общего тромбина)

- ✦ Укорочение времени свертывания не имеет клинической значимости

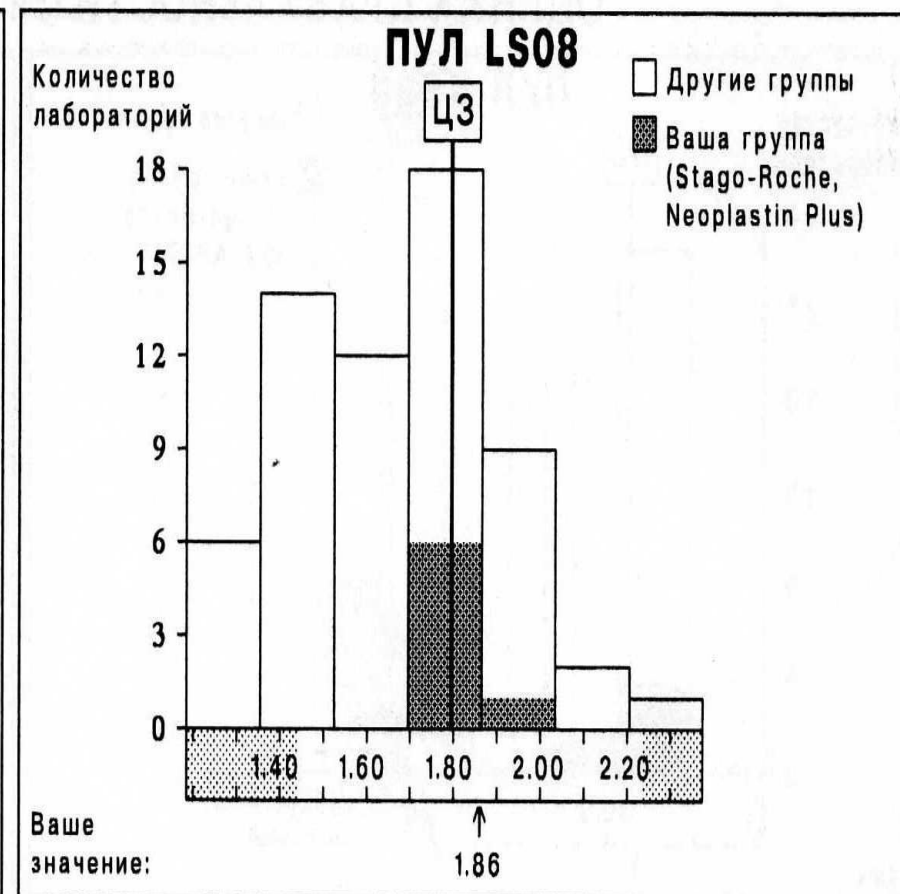
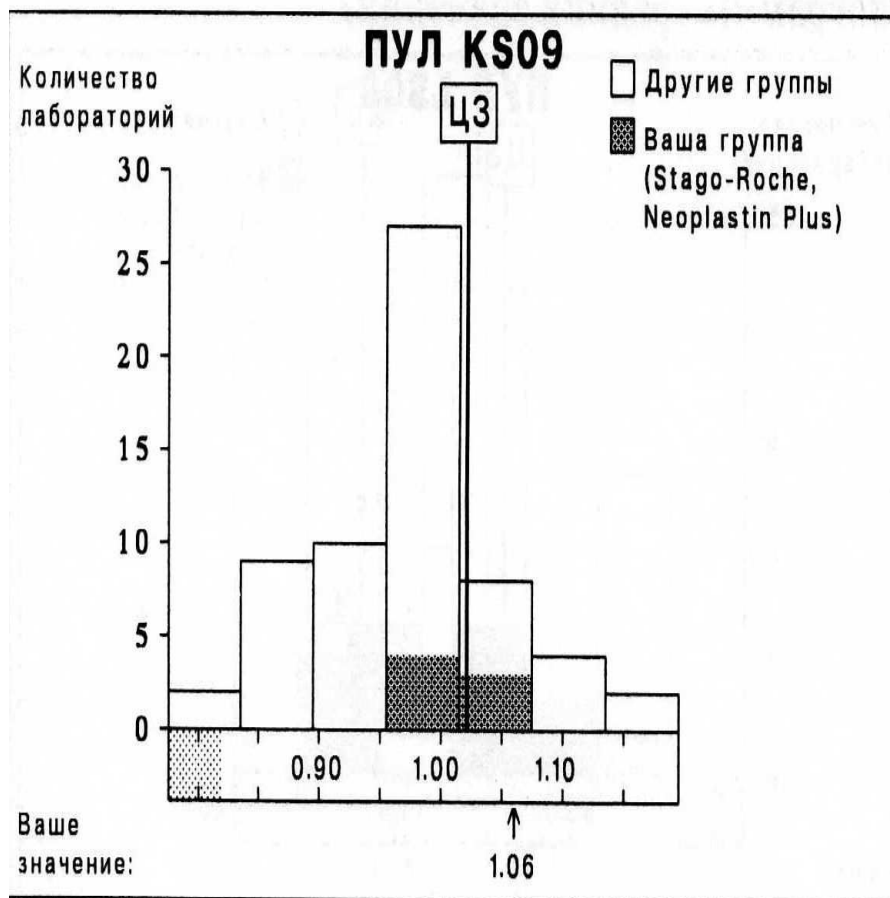
Оценка результата ПВ

> 70%.

Увеличение протромбинового времени
> 100% не имеет клинической значимости

Результат с МНО > 3.0 требует обязательного
повторного исследования

ФСВОК: контроль качества определения МНО (цикл 2-10)



Факторы, влияющие на точность вычисления МНО

$$\text{МНО} = \left(\frac{\text{протромбиновое время больного}}{\text{протромбиновое время нормальной плазмы}} \right) \text{ МИЧ}$$

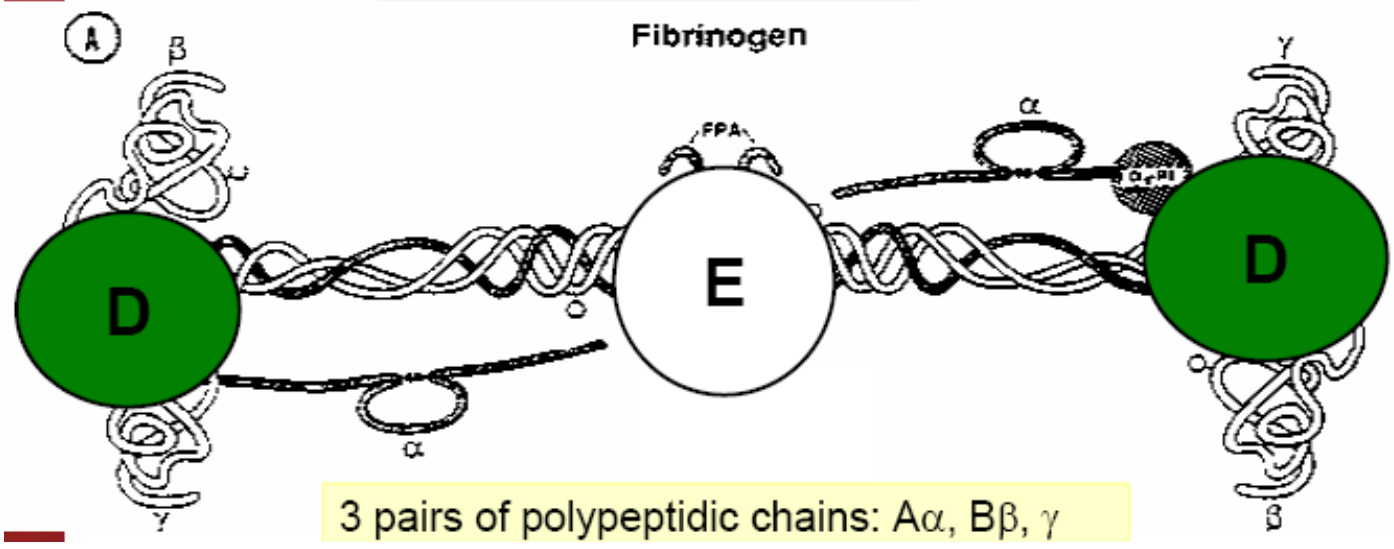
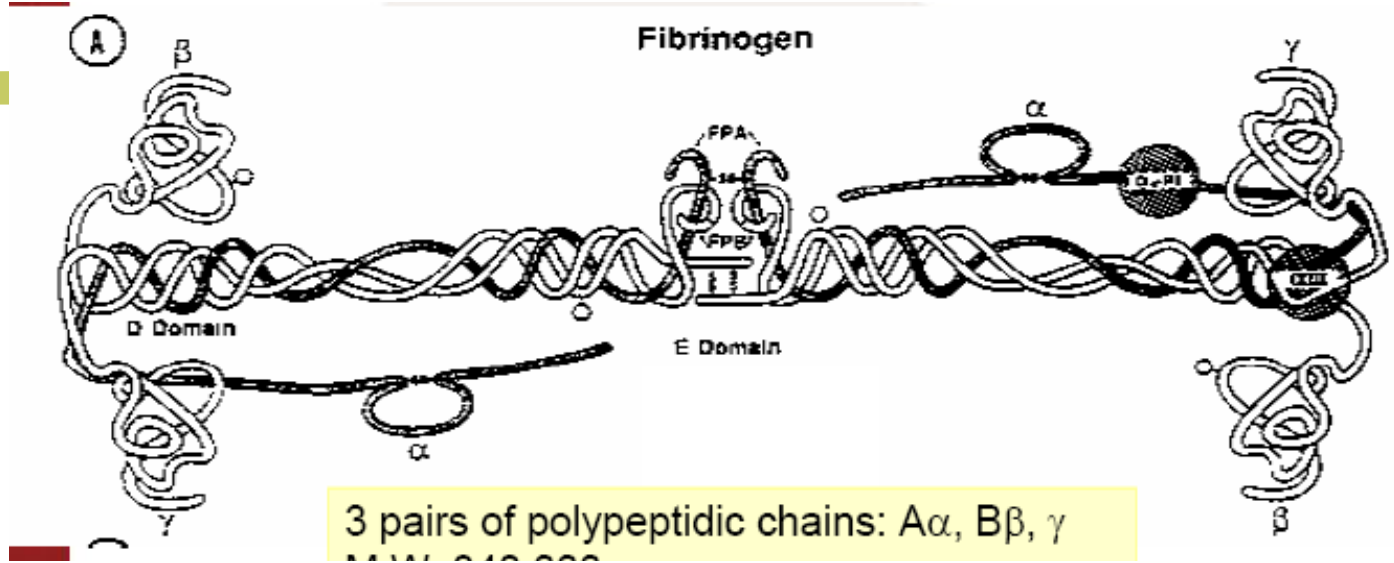
Рекомендация Комитета по стандартизации ISTH:

ТВ нормальной плазмы - **среднее геометрическое время плазм ≥ 20 -ти доноров**

Маркеры активации свертывания

- ✦ Маркеры, связанные с продукцией фибрина
 - D-димер
 - ПДФ (продукты деградации фибрина/фибриногена)
 - Фибрин-мономер (FM)/растворимый фибрин (SF)

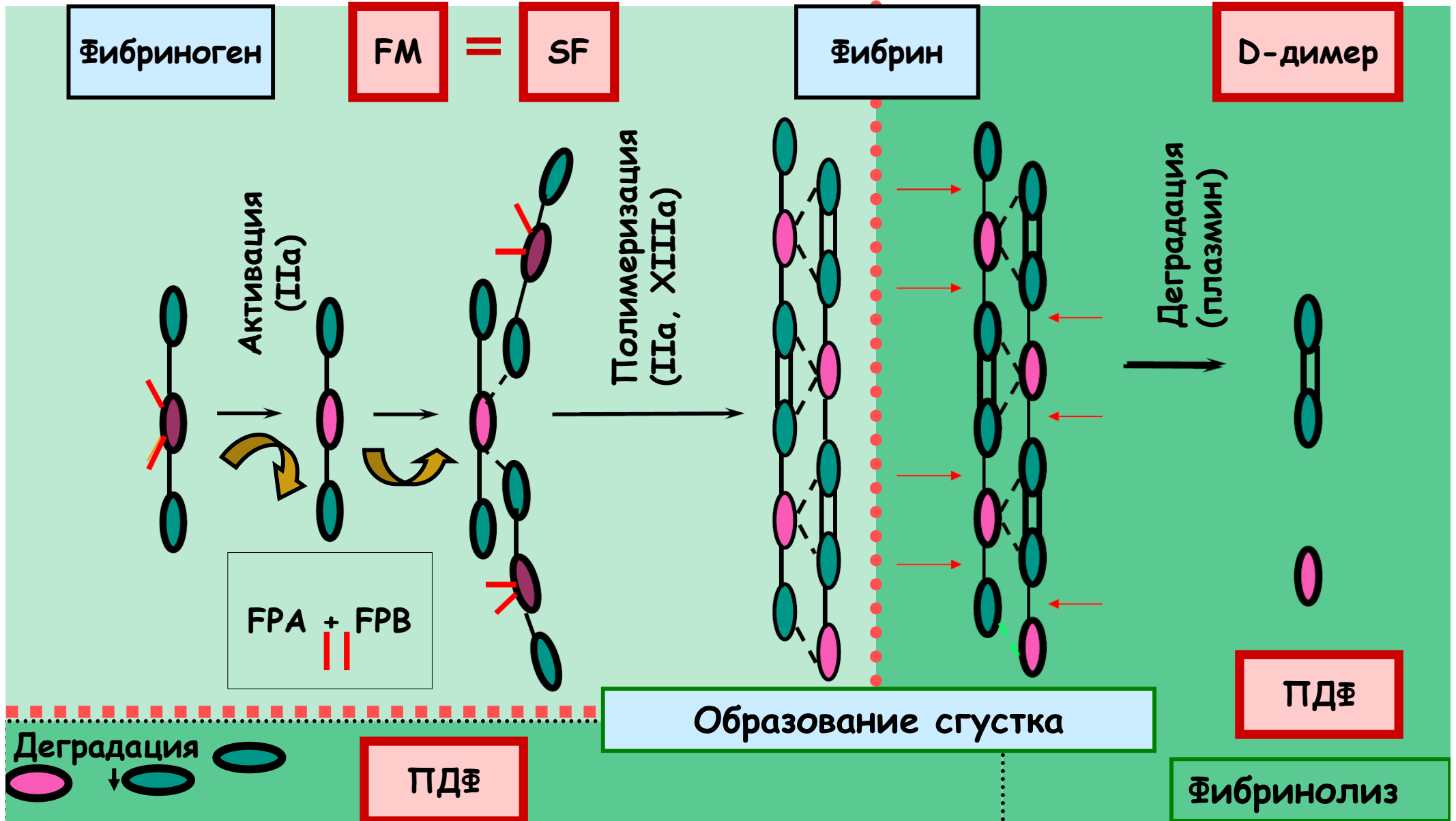
Фибриноген



Маркеры, связанные с продукцией фибрина

Гиперкоагуляционный статус
(ТРЕ-тромботическое состояние)

ПОСТ-тромботический статус



D-димер- оценка склонности к повышенному тромбообразованию

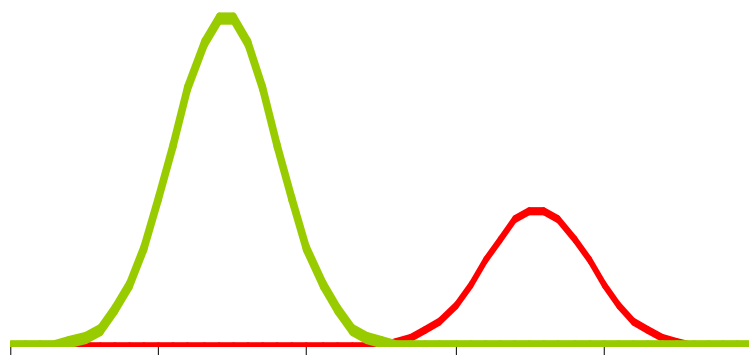


Подозрение на активацию свертывания и все клинические ситуации с усилением фибринолиза такие как:

- # Сепсис или тяжелая инфекция, вызванная любыми микроорганизмами
- # Травма
 - политравма, нейротравма, жировая эмболия
- # Деструктивные процессы в органах (например, острый панкреатит)
- # Злокачественные новообразования
 - солидные опухоли
 - Миелопролиферативные/ лимфопролиферативные заболевания
- # Акушерская патология
 - эмболия околоплодными водами
 - отслойка плаценты
- # Сосудистые расстройства
 - синдром Казабаха-Мерритта
 - большие сосудистые аневризмы
- # Острая печеночная недостаточность, некроз
- # Выраженные токсические воздействия или иммунологические реакции
 - укусы змей
 - наркотические препараты
 - посттрансфузионные реакции

Cut-off – дискриминационное значение

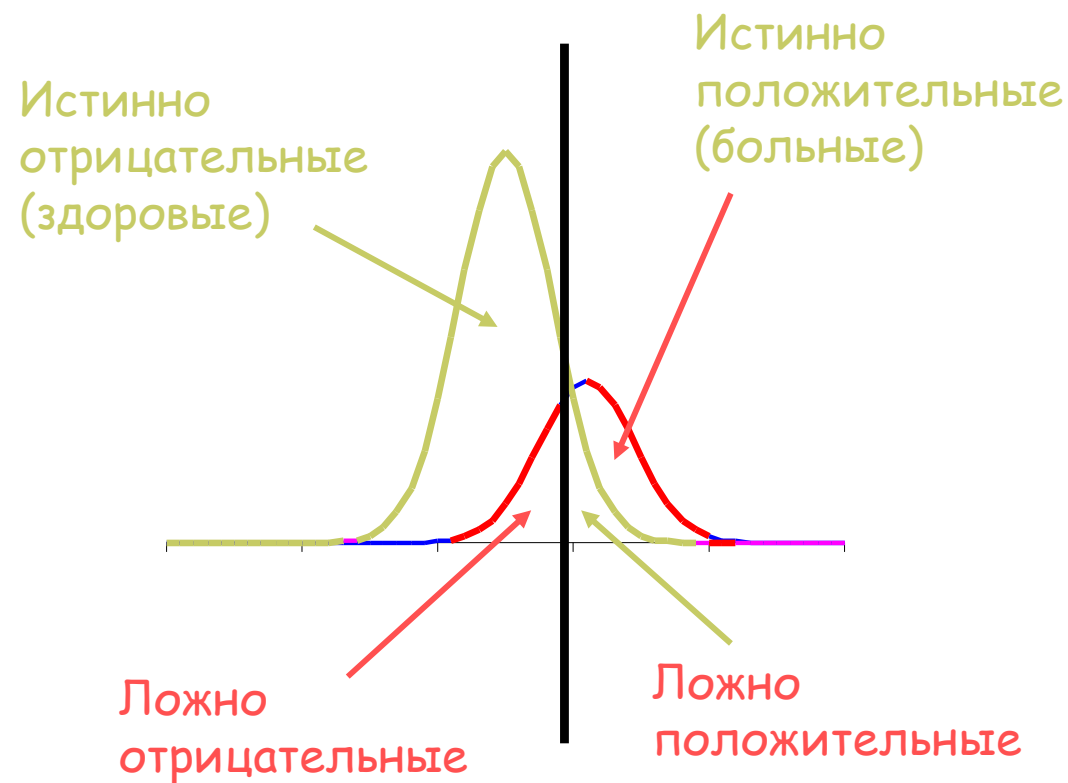
Наши мечты



Здоровые

Больные

Наша реальность



- # Чувствительность и специфичность теста не дают информации о вероятности того или иного заболевания
- # Необходимо получить подтвержденное в клинических испытаниях значение cut-off (дискриминационное значение) **для каждого теста в различных клинических состояниях**, разделяющих здоровых и больных людей

Клинические показания для измерения уровня D-димера

1. Исключение тромбоза глубоких вен и ТЭЛА
2. Исключение синдрома ДВС
3. Прогнозирование течения заболеваний и опасности тромбозмболических нарушений
4. Оценка эффективности антитромботической терапии
5. Определение длительности антитромботической терапии

D-димер

- # Cut-off для исключения ВТЭ: 0.5 мкг/мл = 500 нг/мл
- # Высокая отрицательная прогностическая значимость для исключения ВТЭ: 98-100%

NPV:
$$\frac{\text{Истинно отрицательные}}{\text{Истинно отрицательные} + \text{Ложно отрицательные}}$$

Предварительная оценка вероятности тромбоза

Клинические признаки

Баллы

- | | |
|--|----|
| - Онкологические заболевания | 1 |
| - Паралич, недавнее наложение гипса | 1 |
| - Недавняя иммобилизация или операция | 1 |
| - Болезненность вдоль глубоких вен | 1 |
| - Отек конечности | 1 |
| - Разница в окружности икры одной конечности на > 3 см больше другой | 1 |
| - Отек с возникновением ямки при надавливании | 1 |
| - Коллатеральные поверхностные вены | 1 |
| - Ранее документированный TVP | 1 |
| - Вероятный альтернативный диагноз | -2 |

Высокий риск при баллах ≥ 3 ; Умеренный - 1 или 2;
Низкий - 0 и менее

D-димер как тест второй линии после предварительной клинической оценки вероятности риска тромбоза

Предварительная оценка вероятности тромбоза

Слабый или умеренный

Высокий

D-димер

D-димер > cut-off

D-димер < cut-off

Инструментальное
обследование

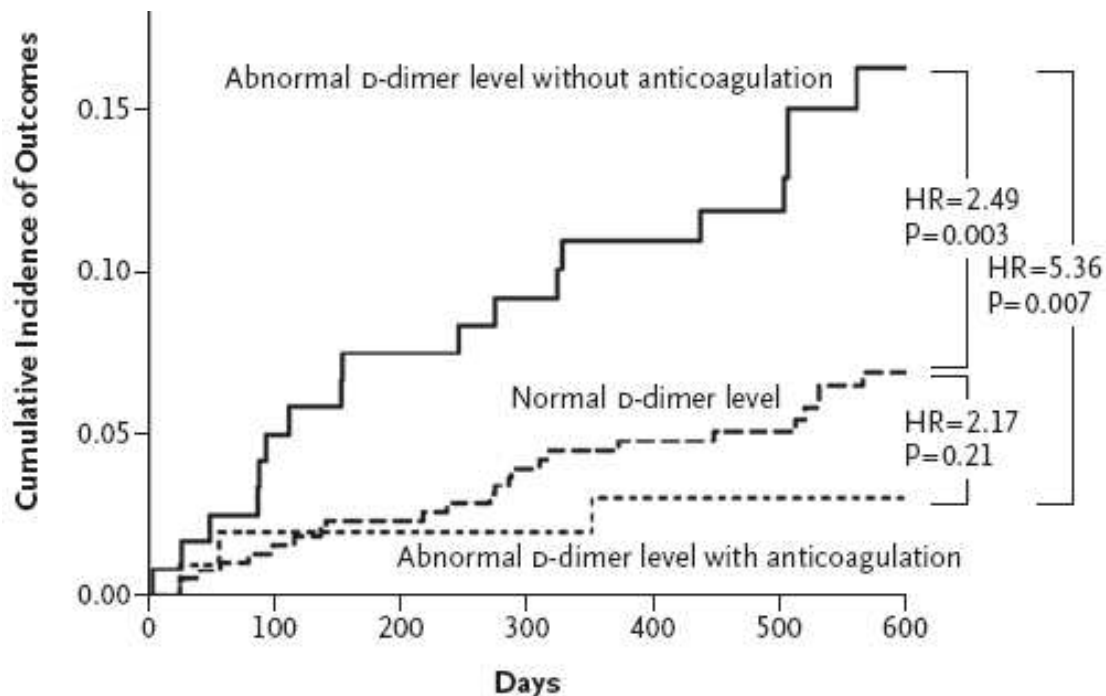
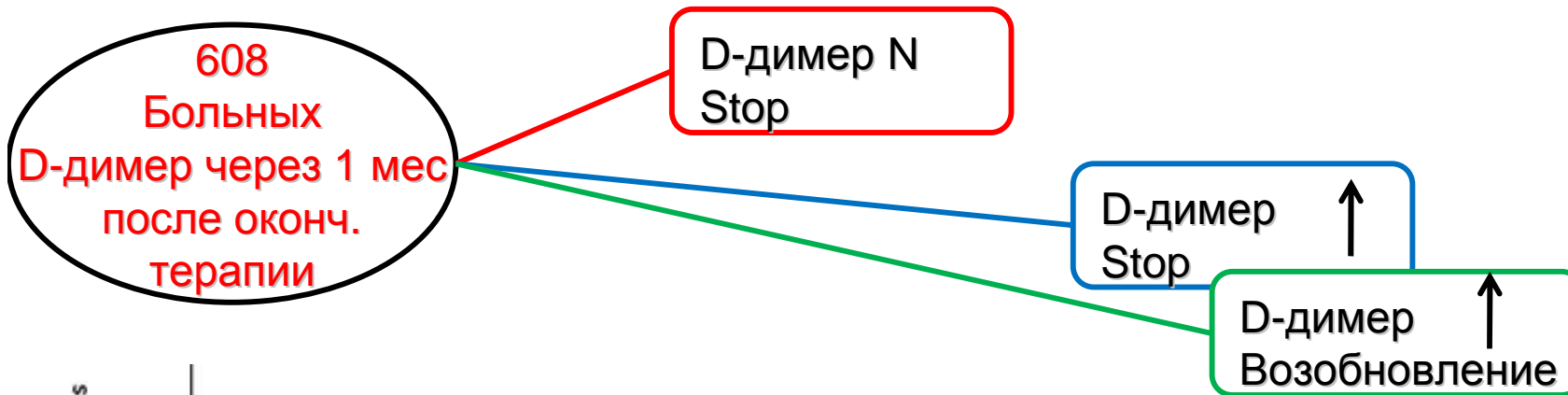
Нет тромбоза

Тромбоз

Нет терапии

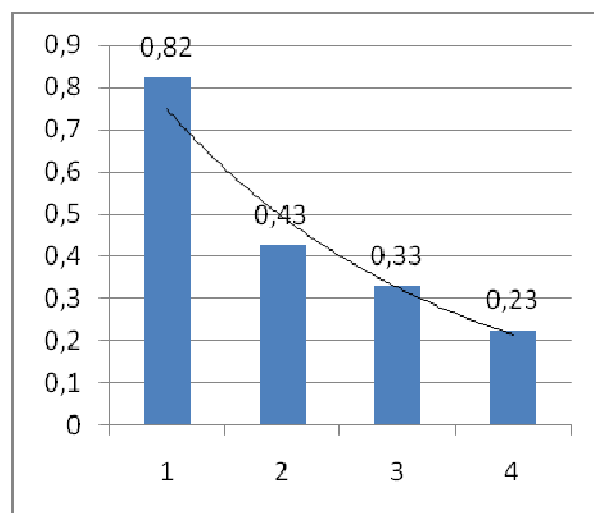
Терапия

Уровень D-димера в оценке риска рекуррентного тромбоза после первого документированного эпизода



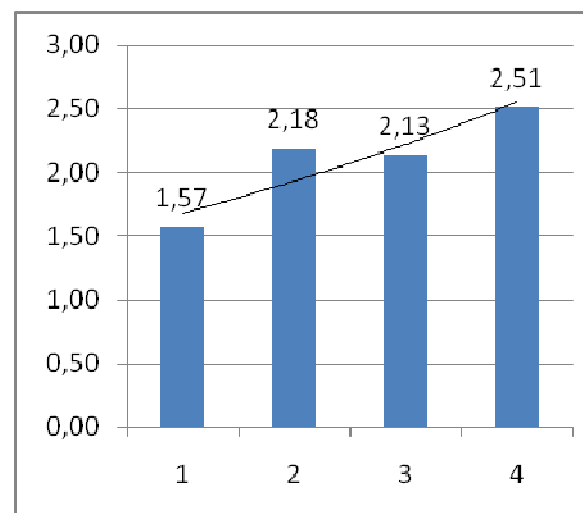
Уровень D-димера коррелирует с риском повторного эпизода после первого эпизода ВТЭ и может быть полезен в определении длительности терапии

Динамика D-димера и МНО в ходе подбора и коррекции дозы варфарина



D-димер, мкг/мл

n=78



МНО

Ограничения в использовании D-димера

- # D-димер может быть отрицательным
 - при ТЭЛА, если сгусток старый (2 недели и более после образования тромба)
 - если сгусток очень маленький

- # D-димер имеет ограниченное использование для исключения ТГВ и ТЭЛА
 - До 30 дней после оперативных вмешательств
 - Возраст старше 80 лет
 - Поздние сроки беременности
 - Онкология
 - Госпитализированные пациенты
 - У пациентов на лизисной терапии
 - Заболеваниях крови

- # D-димер может быть ложно завышенным при наличии высокого титра IgM

D-димер -оценка результата

Высокая вариабельность анализа:

- Ситуация *in vivo* \neq *in vitro*
- *In vitro*: плазмин расщепляет фибрин до фрагментов D=D и E
- *In vivo*: фрагменты до 5 млн Да (до 15 последовательностей D=D-E)

D-димер - оценка результата

✦ Высокая вариабельность анализа:

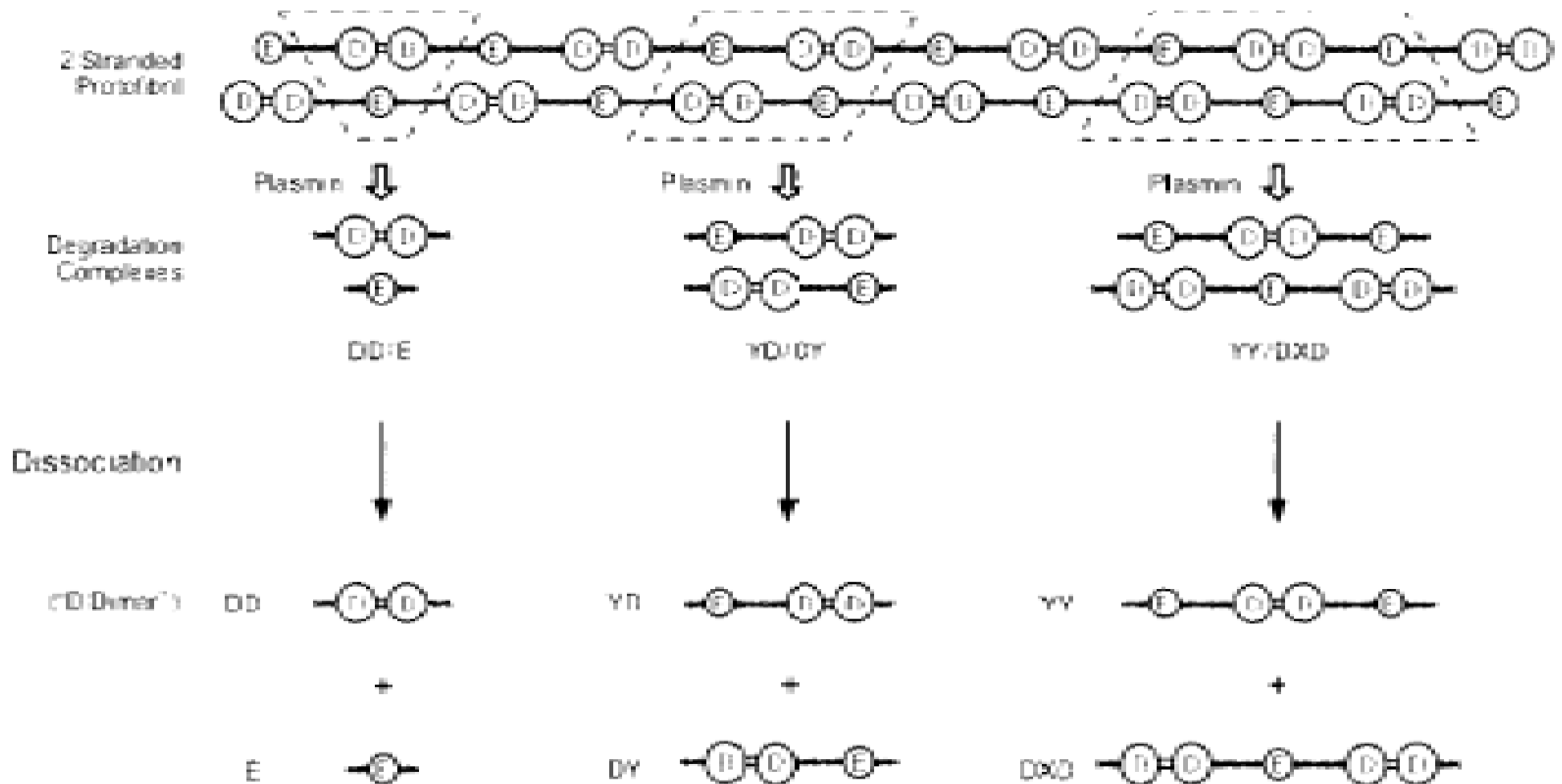


Figure 2 Plasmic degradation of cross-linked fibrin. Plasmic degradation of the two-strand protofibril results in a series of noncovalent

D-димер -оценка результата

Высокая вариабельность анализа:

- Ситуация *in vivo* \neq *in vitro*
- *In vitro*: плазмин расщепляет фибрин до фрагментов D=D и E
- *In vivo*: фрагменты до 5 млн Да (до 15 последовательностей D=D-E)
- Отсутствие международной стандартизации: используются различные моноклональные антитела
- Калибровка проводится по набору Asserachrom D-Dimer, Stago (ИФА), который в 1994 году был признан «золотым стандартом»
- Если в исследуемой пробе D-димер отсутствует, то результаты, полученные с реагентами разных производителей будут отрицательными
- Если в исследуемой пробе присутствует D-димер, результаты, полученные с реагентами разных производителей будет положительным, но количество определенного D-димера может быть различным

D-димер -оценка результата

Различные единицы измерения:

Fibrinogen Equivalent Unit
(FEU)

Cut off 0.5 мкг/мл = 500 нг/мл (мг/л)

D-Dimers Unit
(DDU)

Cut off 0.25 мкг/мл = 250 нг/мл
(мг/л)

1 единица FEU = 2 единицы DDU

D-димер -оценка результата

- # Повышение уровня D-димера может наблюдаться при множестве клинических ситуаций
- # Любой результат с повышенным уровнем D-димера должен быть внимательно рассмотрен (вероятность развития тромбоза очень велика)
- # Уровень D-димера ниже cut-off означает отсутствие активного сгустка, т.е. вероятность развития тромбоза очень низка



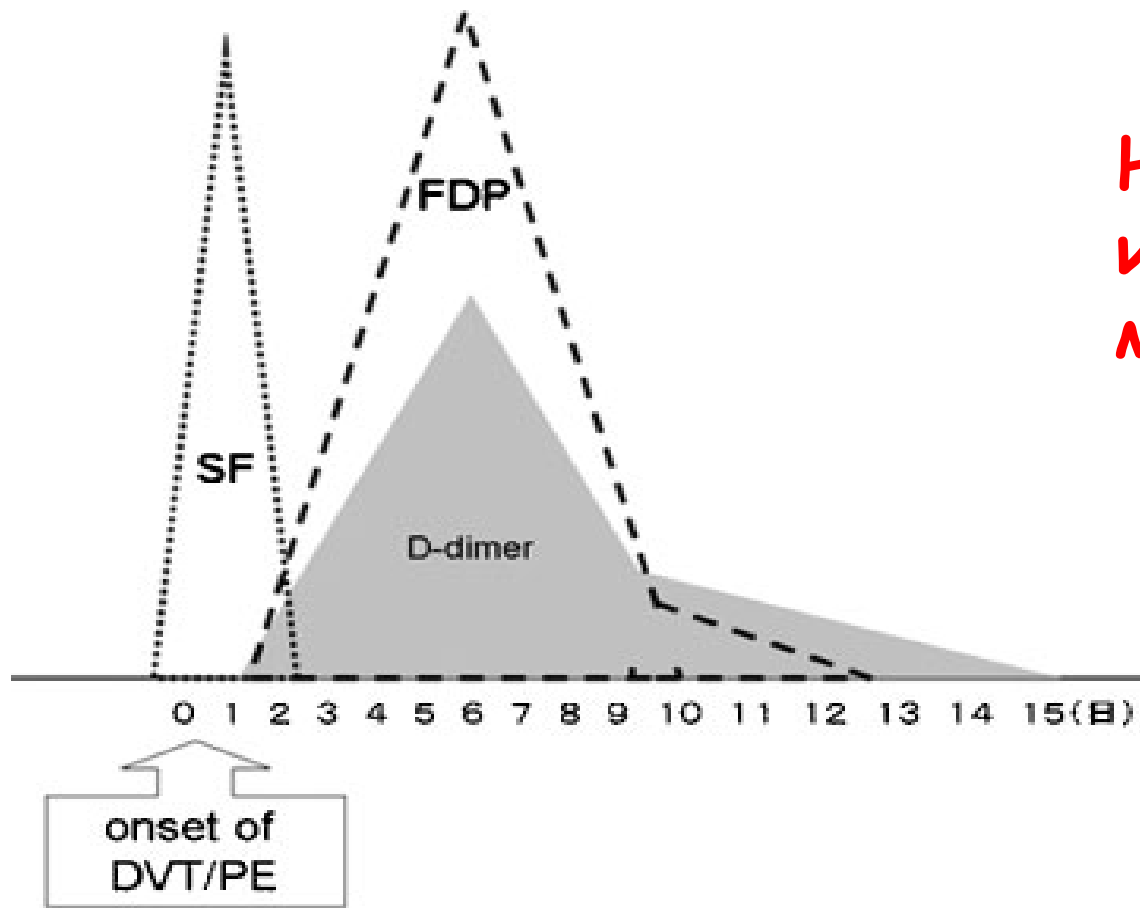
Растворимый фибрин (SF) - маркер претромботических состояний

- Уровень SF (FM) отражает раннюю фазу гиперкоагуляционного статуса:
 - Детекция претромботических состояний (ТГВ/ТЭЛА, церебральный тромбоз, острый инфаркт миокарда, прогрессирование ДВС-синдрома)

Хронология событий in vivo

- # Сосудистый спазм - несколько секунд
- # Образование первичного тромбоцитарного сгустка 3-5 мин
- # Образование фибринового сгустка 10-30 мин
- # Процесс репарации с участием фибринолитической системы: дни - недели

Кинетика маркеров, связанных с фибрином



Необходимо исследовать оба маркера!

Маркеры активации свертывания



D-димер	Фибрин-мономер
Внутри- и внесосудистый фибриногенез	Внутрисосудистый фибриногенез
ТДФ	НЕ является ТДФ
Маркер образования фибрина и его протеолиза	Маркер образования фибрина
Маркер <u>поздней</u> стадии гиперкоагуляционного статуса	Маркер <u>ранней</u> стадии гиперкоагуляционного статуса

Маркеры активации свертывания



- # FM отражает раннюю фазу тромбообразования
Cut-off 10 мкг/мл (Сепсис-ассоциированный ДВС-синдром)
- # D-димер отражает вторичный фибринолиз после образования сгустка
Cut-off 0.5 мкг/мл (ТГВ,ТЭЛА)



olga.kuznetsova@roche.com

+7 965 007 42 70



We Innovate Healthcare