

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Р.А. Часнойть  
23 мая 2008 г.  
Регистрационный № 076-0907

**СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ РИСКА  
ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ  
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ  
ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ГЕМОСТАЗА**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический  
центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. И.В. Залуцкий, д-р мед. наук, проф.  
В.И. Прохорова, канд. биол. наук Т.П. Цырусь, д-р мед. наук, проф.  
А.А. Машевский, канд. биол. наук Л.А. Державец, С.В. Остапенко,  
Л.М. Шишло

Минск 2008

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

### **Средства измерений:**

- гемостазиологические анализаторы;
- иммуноферментный анализатор (ИФА);
- агрегометр;
- спектрофотометр;
- комплект дозаторов с переменным объемом доз.

### **Вспомогательные устройства:**

- центрифуга лабораторная;
- встряхиватель для пробирок;
- холодильник бытовой с температурным режимом;
- шкаф сушильный электрический;
- лабораторная посуда (колбы, пробирки, стеклянные палочки).

### **Реактивы:**

• *наборы реагентов для проведения различных тестов коагулограммы (активированного частичного тромбопластинового времени, тромбинового времени, фибриногена, Д-димеров, антитромбина III, пламиногена, антипламина, фактора свертывания Виллебранда, протеинов С и S);*

• *наборы реагентов для ИФА-анализа:*

- гомоцистеина;
- сосудисто-эндотелиального фактора роста;
- молекул межклеточной адгезии.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Использование способа рекомендуется для:

- выявления нарушений в системе гемостаза у больных злокачественными новообразованиями;

- разделения больных злокачественными новообразованиями на прогностические классы — прогнозирования тромбоэмболических осложнений, обусловленных биохимическими факторами риска развития тромбофилий;

- выработки показаний для дифференцированной антикоагулянтной терапии, выбора терапевтической дозы антикоагулянтов в зависимости от стратификации больных по степени риска развития послеоперационных венозных тромбоэмболических осложнений, обусловленных возрастом пациентов, продолжительностью хирургического вмешательства и характером сопутствующей патологии.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Не выявлены.

**Контроль качества** лабораторного исследования выполняется на всех этапах лабораторного анализа — от периода подготовки пациента до использования полученных результатов в клинике. Осуществляется ежедневно и включает в себя следующие основные этапы:

а) преаналитический (подготовка пациента, взятие биологического материала, его предварительная обработка, транспортировка и хранение)

*Примечание. Результат коагулологических исследований во многом зависит от того, как собиралась и обрабатывалась кровь. Активация свертывания во время получения или обработки крови может привести к непредсказуемому результату большинства тестов. Для предотвращения активации свертывания компрессия вены не должна превышать 1 мин, и первые капли крови, которые могут содержать тканевый фактор, лучше для этих анализов не использовать. Кровь необходимо собирать в вакутайнер или пластиковую пробирку, содержащую антикоагулянт. Кровь немедленно и аккуратно перемешивают с антикоагулянтом. Задержка с перемешиванием крови увеличивает вероятность ошибочного результата или тестирования. Перед центрифугированием необходимо внимательно проверить пробирку на наличие сгустков. При обнаружении нитей фибрина образец выбраковывают.*

б) аналитический (контроль процедуры дозирования, проведение реакции), расчет результатов;

в) постаналитический (доведение полученной информации до врача).

Воспроизводимость и правильность полученных результатов лабораторных анализов оценивается методами исследования контрольных сывороток и плазм с референтными величинами тестов, параллельных, случайных, повторных, смешанных проб.

#### **Техника безопасности**

Главным фактором заражения сотрудников лабораторий инфекционными заболеваниями является инфицированный биологический материал. Поэтому безопасность лабораторных исследований должна быть основана на профилактике инфицирования медицинского персонала лабораторий и обследованных больных, что требует соблюдения санитарно-эпидемиологического режима. При организации противоэпидемических мероприятий в лабораториях необходимо руководствоваться правилами безопасной работы, которые регламентированы нормативными документами (приказ Минздрава РБ № 66 от 12.06.89, № 201 от 19.01.98, № 351 от 16.12.98, инструкция по охране труда для КДЛ, инструкции по эксплуатации медицинских измерительных приборов).

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА**

У обследованных больных определяется уровень в крови:

- *активированного частичного тромбластинового времени (АЧТВ)* — времени образования сгустка после добавления к плазме кефалина и каолина — основной тест, оценивающий внутренний путь активации процесса свертывания крови;

- *протромбинового времени с расчетом МНО;*
- *тромбинового времени;*

- *фибриногена*;
- *Д-димеров (ДД)* — специфических продуктов деградации фибрина, образующихся в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых неспецифических фибринолитиков;
- *антитромбина III (АТ-III)* — наиболее значимого ингибитора системы свертывания крови; помимо тромбина АТ-III ингибирует фактор Ха, а также факторы IXa, XIa, XIIa и калликреин;
- *степени агрегации тромбоцитов* — показателя функционального состояния тромбоцитов, отражающего интенсивность вовлечения тромбоцитов в агрегационный процесс и формирования тромбоцитарного тромба;
- *VIIIa-rTF* — активированного VII фактора плазмы крови;
- *протеина С (ПС)* — витамин К-зависимого белка плазмы, основной функцией которого в системе гемостаза является инактивация факторов Va и VIIIa; дефицит ПС вызывает венозные и артериальные тромбозы, выраженность тромбофилий коррелирует с дефицитом этого белка;
- *протеина S (ПС)* — витамин К-зависимого белка плазмы, который является кофактором протеина С; тяжесть течения тромбофилии при дефиците ПС пропорциональна степени снижения его активности;
- *плазминогена (ПЛ)* — центрального фермента системы фибринолиза, непосредственно расщепляющего фибрин, на регуляцию активации которого направлены все реакции системы фибринолиза;
- *антиплазмينا (АПЛ)* — основного ингибитора фибринолиза, инактивирующего плазмин с образованием неактивных комплексов и удаляющего свободный плазмин из системы циркуляции;
- *фактора межклеточной адгезии (sICAM) и фактора тромбоцитарно-эндотелиальной адгезии (sPECAM)*, характеризующих нарушения межклеточного взаимодействия и функциональную активность адгезированных тромбоцитов, являющихся основой тромбоцитарного тромба;
- *фактора свертывания Виллебранда (ФВ)*, обеспечивающего фиксацию тромбоцитов к субэндотелиальным структурам и связывание свободного фактора VIII;
- *сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР)* — ангиогенного ростового фактора, вызывающего гиперкоагуляционное состояние за счет неоваскуляризации растущей опухоли;
- *гомоцистеина (ГЦ)* — небелковой сульфгидрильной аминокислоты; отмечена связь гипергомоцистеинемии с увеличенным риском развития венозных тромбозов.

В соответствии с задачами исследования, направленными на выявление причин повышенного тромбогенного риска, разработан набор (комплекс) лабораторных методов или алгоритм последовательных действий, которые можно рассматривать как стандарт лабораторных исследований у

онкологических больных. Набор методов отличается в ургентной и плановой ситуациях, что должно быть учтено при организации работы лаборатории.

В случае предполагаемых приобретенных нарушений свертывающей системы крови, в основном в коагуляционном гемостазе, выполняется скрининговая коагулограмма, обеспечивающая **рабочий алгоритм** диагностики нарушений гемостаза у онкологических больных:

- АЧТВ;
- тромбиновое время;
- протромбиновое время с расчетом индекса МНО;
- фибриноген;
- Д-димеры;
- антитромбин III;
- степень агрегации тромбоцитов.

Для принятия решения о наличии или отсутствии гемостазиологических нарушений у онкологических больных используются показатели меры информативности, рассчитанные с использованием вероятностного метода Кульбака и регрессионного анализа Кокса (Cox regression).

Сопоставление показателей гемостаза у 586 больных раком различных нозологических форм с наличием или отсутствием тромбогенной патологии сосудов в периоперационном периоде (по данным компьютерной томографии и ультразвукового исследования) обеспечило выбор наиболее значимых лабораторных признаков тромбофилии. В соответствии с величиной показателя пропорционального риска со степенью значимости  $p < 0,001$  *наиболее информативными тестами* являются:

Показатели	Величина пропорционального риска	Баллы
1. Д-димеры	3,091	4,5
2. Антитромбин III	2,831	3,5
3. Степень агрегации тромбоцитов (САТ)	2,491	3,0

В клинических ситуациях более удобным и экспрессным является использование балльной системы. Наиболее информативными признаками нарушений в системе гемостаза, мера информативности которых превысила 3 балла, являются: Д-димеры, АТ-III, степень агрегации тромбоцитов. К менее информативным признакам относятся:

Показатели	Баллы
1. АЧТВ	1,2
2. Протромбиновое время	1,2
3. Тромбиновое время	1,6
4. Фибриноген	1,6

Информация о наличии или отсутствии дифференцируемого состояния (тромбофилии) обеспечивается суммарной мерой информативности, при которой диагностический пороговый коэффициент  $\geq 10$  баллов. Поэтому:

- в тех случаях, когда установлено повышение ( $>10\%$  от верхней границы нормы) активности или уровня не менее трех информативных признаков и их суммарный балл  $\geq 10$ , можно утверждать с вероятностью ошибки  $<10\%$  о существовании у больного тромбогенного риска, обусловленного нарушениями гемостаза;

- в тех случаях, когда значения исследованных показателей не отличаются от нормы, можно утверждать с вероятностью ошибки  $<10\%$ , что нарушений гемостаза нет;

- в тех случаях, когда имеется менее трех информативных признаков гиперкоагуляции и их отличия нерезко выражены ( $<10\%$  пороговых величин), имеющейся информации недостаточно. Необходимо расширить объем лабораторных исследований, включив другие признаки гемокоагуляции.

Расширенный объем лабораторных исследований включает дополнительные тесты:

Показатели	Баллы
1. VIIa-rTF	1,31
2. Гомоцистеин	1,0
3. Протеин С	1,0
4. Протеин S	1,1
5. Плазминоген	1,1
6. Антиплазмин	1,0
7. sICAM	0,7
8. sPECAM	0,79
9. Фактор Виллебранда	1,1
10. СЭФР	0,8

Количество менее информативных и дополнительных признаков, привлекаемых для распознавания тромбофилии, определяется суммарной мерой информативности, необходимой для достижения порогового коэффициента, равного 10 баллам.

Дополнительные тесты выполняются в плановой ситуации при наблюдении за больными с выраженными расстройствами системы гемостаза при предполагаемом развитии тромбозов после обширных операций, массивных кровопотерь и гемотрансфузий, клиническом подозрении тромбофилии.

**В расширенном алгоритме** оценки гемостаза, включающем 17 тестов, используются показатели, характеризующие антикоагулянтное, тромбоцитарное звено, плазминовую систему и сосудисто-эндотелиальную функцию. Это отвечает требованиям, предъявляемым к программе гемокоагуляционных исследований, позволяющим оценить глубину нарушений гемостаза, выбрать оптимальное направление корригирующей терапии и обеспечить ее контроль.

Гиперкоагуляционный сдвиг исследуемых показателей, контролируемая ингибиторами активация лизиса фибрина и протеолиза, реакция сосудистой стенки на повреждение представляют сочетание нескольких механизмов, способных при условии стаза крови вследствие гиподинамии инициировать развитие тромбоза. Гиперкоагуляционный сдвиг показателей гемостаза у исследуемых онкологических больных может быть лимитирован изменением уровня естественных антикоагулянтов – антитромбина III, протеина C, протеина S.

Практическое использование разработанного алгоритма осуществляется следующим образом:

В рамках рабочего алгоритма диагностики нарушений гемостаза выполняется скрининговая коагулограмма: АЧТВ, протромбиновое время, фибриноген, тромбиновое время; показатели Д-димеров, антитромбина III, агрегации тромбоцитов. Повышение уровня Д-димеров более 0,5 мкг/мл при сниженной антитромбиновой активности <70% и повышенной агрегационной способности тромбоцитов >30% расценивается как гиперкоагуляция. Такая коагулограмма отражает системную гиперкоагуляцию в сочетании с недостаточностью противосвертывающих механизмов.

В тех случаях, когда имеется только 1–2 информативных признака гиперкоагуляции в скрининговой коагулограмме и их отличия от нормы нерезко выражены (<10% пороговых величин), выполняется расширенный алгоритм оценки гемостаза. Объем лабораторных исследований должен быть расширен в соответствии с диагностическими возможностями лабораторной службы. Расширение объема исследований за счет определения уровня гомоцистеина, естественных антикоагулянтов (C и S), показателей плазминовой системы и сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в зависимости от суммарной пороговой величины > 10 < баллов позволяет подтвердить или отвергнуть наличие риска тромбоэмболических осложнений.

Проведение расширенного алгоритма диагностики риска тромбоэмболических осложнений предоставляет возможность оценить доклинические проявления внутрисосудистой коагуляции или повышения активации тромбоцитов. В обычных условиях дисбаланс компонентов свертывающей системы может не проявиться, но в условиях оперативного вмешательства или лучевой и химиотерапии риск тяжелых осложнений (патологическое тромбообразование, тромбоэмболия легочной артерии) у онкологических больных многократно возрастает.

**Экономический эффект.** Внедрение в клиническую онкологическую практику критериев оценки нарушений в системе гемостаза, прогнозирование тромбоэмболических осложнений и объективизация эффективности антикоагулянтной терапии у больных злокачественными новообразованиями способствуют снижению затрат на лечение этой категории больных. Экономический эффект обусловлен тем, что:

1) профилактическая терапия с использованием антикоагулянтов проводится по индивидуальным показаниям только в зависимости от степени риска тромбоэмболических осложнений в прогностически неблагоприятной группе больных; 2) своевременная профилактическая антикоагулянтная терапия снижает частоту тромбоэмболических осложнений послеоперационного периода у онкологических больных; 3) эффективность лечения в целом снижает и затраты на лабораторный мониторинг.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

Причины ошибочных результатов при исследовании показателей системы гемостаза могут быть следующие: неправильный забор и хранение образцов крови, неточное взятие образца исследуемого материала, использование реагентов с истекшим сроком годности, неточное пипетирование реагентов, нарушение технологии лабораторного тестирования.

На результаты лабораторных исследований системы гемостаза могут оказывать влияние виды проводившейся антикоагулянтной терапии и отдельные лекарственные вещества, что может затруднять интерпретацию картины лабораторного тестирования крови.

Для надежности получаемого результата необходимо наличие контрольных плазм и сывороток, включенных в число тестируемых образцов при каждой процедуре анализа.