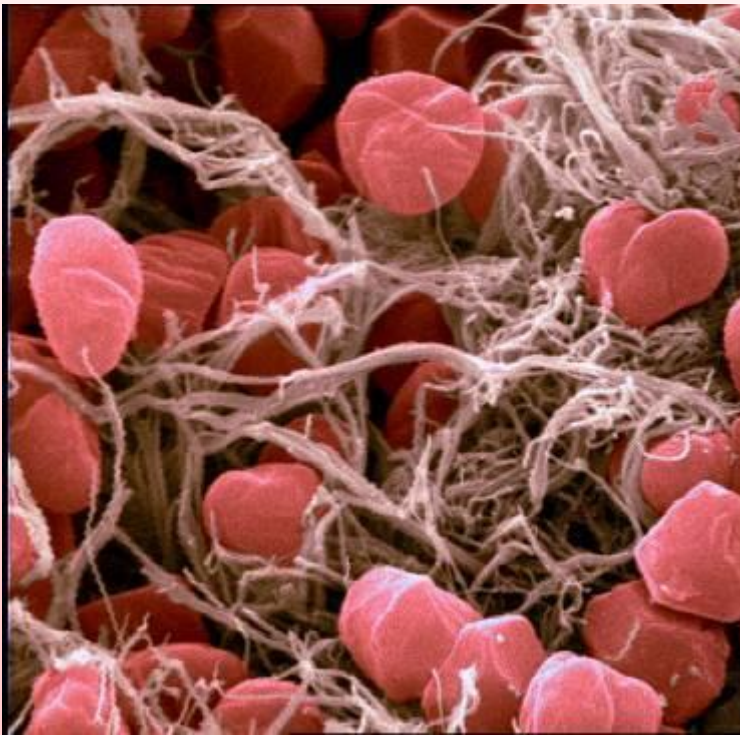


# *Особенности лабораторного обследования лиц пожилого и старческого возраста*



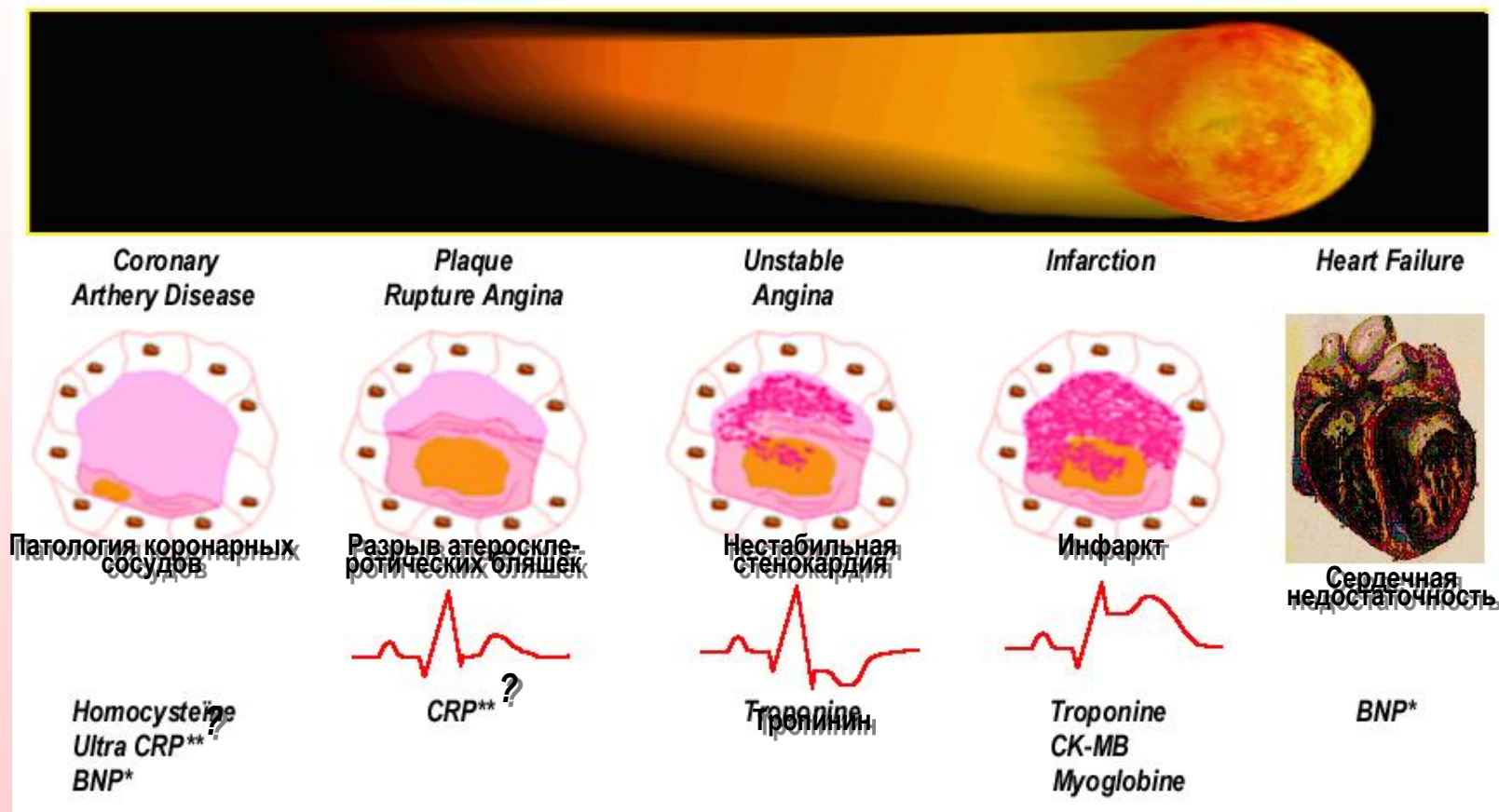
Дорофейков В.В., д.м.н.,  
профессор

кафедры клинической  
лабораторной диагностики и  
генетики ФМИЦ

им. В.А. Алмазова

Зав. Кафедрой биохимии НГУ  
им. П.Ф. Лесгафта

# Континуум сердечно-сосудистых заболеваний и лабораторные маркеры



# Использование Холестерола

1. Структурная роль (текучесть мембран)
2. Синтез половых гормонов
3. Синтез глюкокортикоидов и минералокортикоидов
4. Синтез витамина D
5. Образование желчных кислот

*Таблица концентраций липидов сыворотки крови  
(в ммоль/л)*

	<b>N</b>	<b>пограничный</b>	<b>высокий</b>	<b>очень высокий</b>
<b>ХС общий</b>	<b>до 5.0</b>	<b>5.0-6.2</b>	<b>6.2-7.8</b>	<b>более 7.8</b>
<b>ХС ЛПНП</b>	<b>до 3.0</b>	<b>3.0-4.1</b>	<b>4.1-4.9</b>	<b>выше</b>
<b>Триглицериды</b>	<b>до 1.8</b>	<b>1.8- 2.3</b>	<b>2.3- 4.5</b>	<b>4.5-11.3</b>
<b>ХС ЛПВП</b>	<b>более 0.9 у мужчин и 1.2 у жен.</b>			

# Лабораторные маркеры прогрессии атеросклероза

- Гомоцистеин (до 15 мкмоль/мл)
- Липопротеин (а) (до 0.3 мг/мл)
- Прямое определение ХС ЛПНП
- Соотношение Аполипопротеинов В/А1
- Высокочувствительный С-реактивный белок (более 3 мг/л)
- Агрегация тромбоцитов для определения аспиринорезистентности
- Определение мозгового натрийуретического пептида
- Фибриноген желательно кинетическим методом (до 3.2 г/л)

# Рекомендуемые анализы перед назначением терапии

- Общий ХС
- ХС ЛПНП
- ХС ЛПВП
- Триглицериды
- АЛТ
- КФК
- Дополнительно: СРБ, гомоцистеин, фибриноген, ЛП(а)

# Цели исследования гемостаза

- При наличии клинических проявлений - **диагностика, определение причин нарушений гемостаза**
- Перед инвазивной процедурой (операция и др.) – **оценка риска кровотечения или тромбоза**
- **Контроль лечения препаратами, влияющими на гемостаз** (антикоагулянты прямого и непрямого действия, тромболитические и антиТромбоцитарные препараты, ингибиторы протеаз...)

---

**Очень важен клинический этап - определение склонности к геморрагиям или тромбозам.**

# Преаналитический этап исследования гемостаза



- Исследование ТЦ гемостаза: за день до сдачи крови **избегать стрессов, физических нагрузок**, смены режима дня, изменений в питании, приема **алкоголя**.
- Максимально аккуратная венепункция, жгут – не более 1 мин !
- **Стараться не брать кровь из внутривенного катетера !**
- Взятую **кровь в закрытой пробирке** как можно быстрее обработать для получения плазмы (1 ч; для ПВ – до 24 ч).
- Плазму хранить при комнатной t° до 4 ч, иначе – заморозить.
- Учесть действие вводимых лекарств (**гепарина**); **после инфузии** выждать не менее 1 ч (если возможно).

Недобор крови ➡ избыток цитрата, замедление свертывания



# Стабильность аналитов при исследовании гемостаза



- **АЧТВ, отдельные факторы** – до 2-4 час при комнатной  $t^{\circ}$  (при гепаринотерапии – до 1 час)
- **Тромбоциты** – до 2-4 час при комнатной  $t^{\circ}$ . Не охлаждать!
- **D-димер** в цитратной и гепарин. плазме – до 8 час. при комн.  $t^{\circ}$ .
- **ПВ / МНО** (плазма, цельная кровь) – до 24 час только при комн.  $t^{\circ}$ .
- **фибриноген, антитромбин III, протеин С** в цитратной плазме, **фактор Виллебранда** в ЭДТА-плазме, **гомоцистеин** в ЭДТА-плазме, **антикардиолипидные антитела** в сыворотке - не менее суток при комн.  $t^{\circ}$ .

## При склонности к кровоточивости можно:

1. Провести глобальный тест гемостаза –  
ВСК / ВАС, тромбоэластография, тромбодинамика  
- экспресс-исследование
2. **Оценить тромбоцитарное звено гемостаза**  
(время кровотечения, количество и агрегация ТЦ)
3. **Оценить коагуляционное звено гемостаза**  
(АЧТВ, ПВ / ПО / МНО, фибриноген / ТВ, отдельные факторы, антикоагулянты, фибринолиз...)



# Тесты тромбоцитарного звена

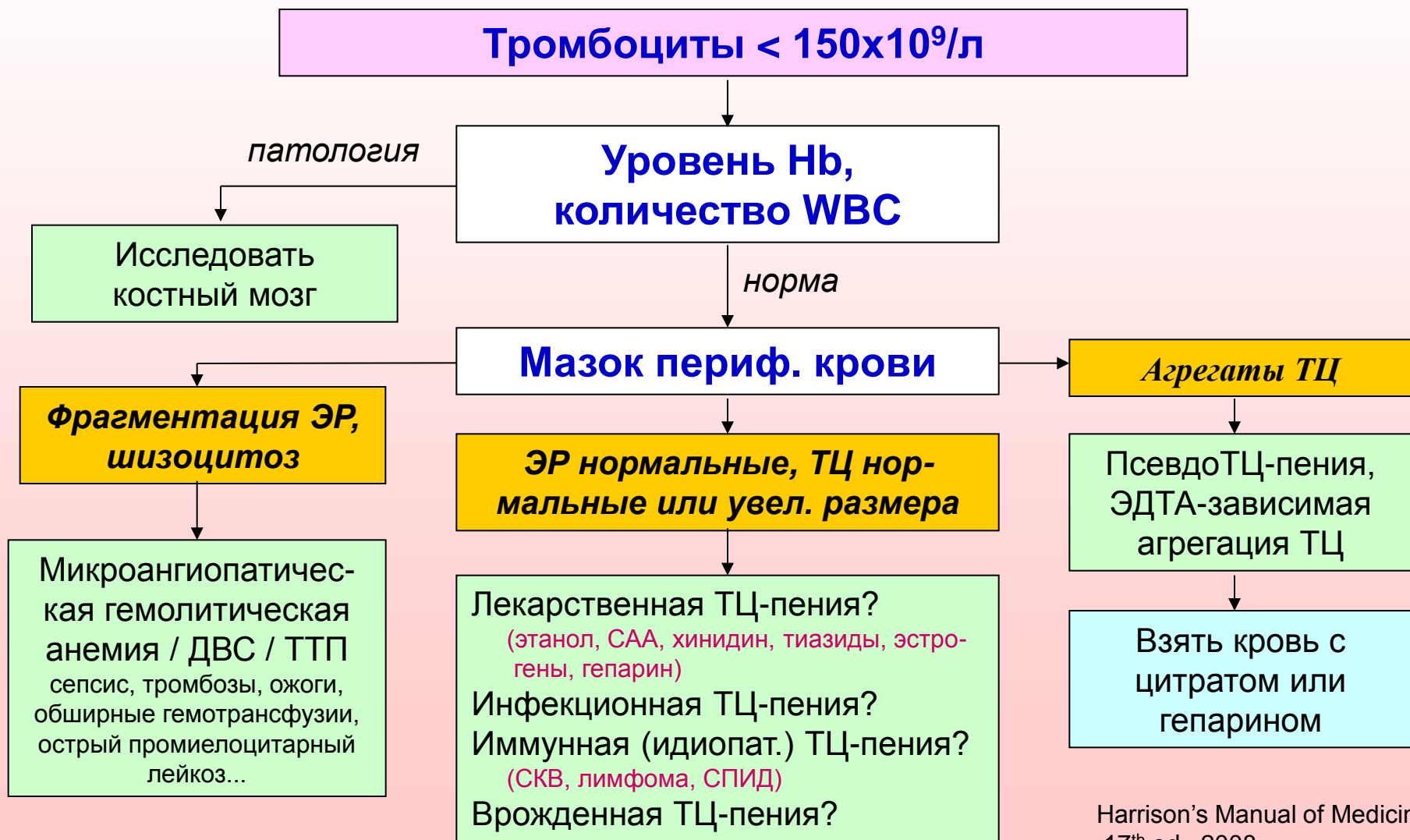
- ❖ **Длительность кровотечения** при стандартном проколе кожи по Duke, Ivy;
- 
- ❖ **Количество тромбоцитов** - в крови с ЭДТА.
    - ❖ Адекватное перемешивание сразу после взятия.  
Не охлаждать !!!
- ❖ **Активность тромбоцитов** – по спонтанной / индуцированной агрегации.
-

# Количество тромбоцитов

- ❖ В камере Горяева – недостаточная точность, возможно занижение результатов. CV - до 25-30%.
- ❖ На гематологическом анализаторе – точно, в стандартных условиях, быстро. Важно предотвратить агрегацию ТЦ и ЭР (перемешивание). CV реалын = 1-2% - важно для оценки динамики количества ТЦ.

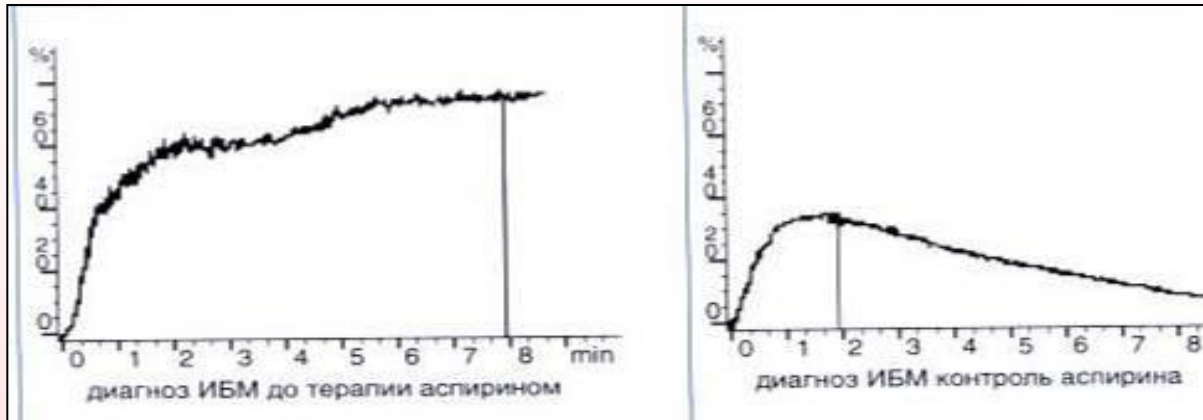


# Алгоритм лабораторного исследования при тромбоцитопении



# Агрегация тромбоцитов

Учесть прием пациентом аспирина и НСПВ в предыд. 9 дней !



BIOLA – 230 LA



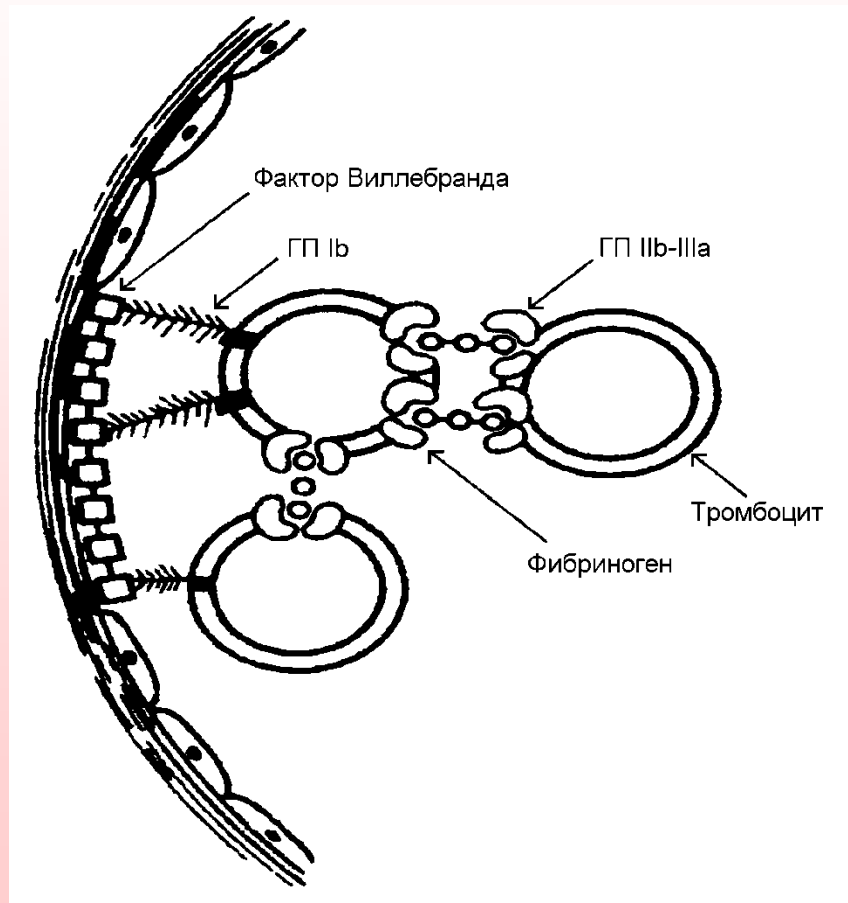
CHRONO-LOG



- Стандартизация (+/-); несоответствие данных на разных приборах и разными методами.
- Очень большой вклад в результаты вносят особенности и ошибки преаналитического этапа.

Оптические,  
импедансные и  
люминесцентные  
агрегометры

# Адгезия и агрегация тромбоцитов.

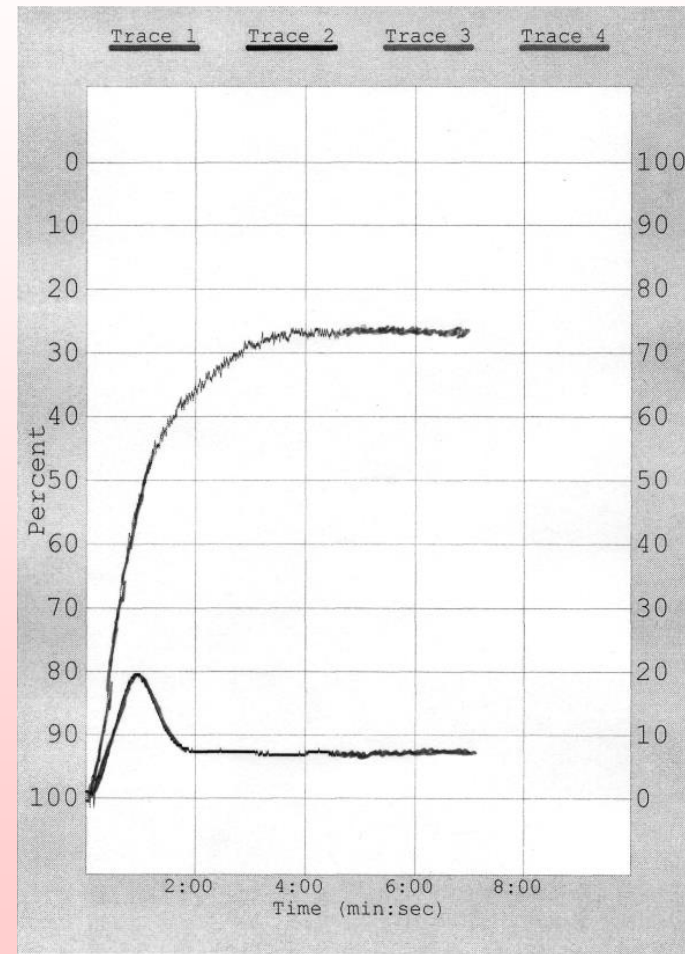


- В процессе адгезии и агрегации изменяется форма тромбоцитов, из дисковидных они превращаются в распластанные отростчатые клетки – активированные тромбоциты.

# Пример нормальной агрегатограммы.

## Индуктор - АДФ

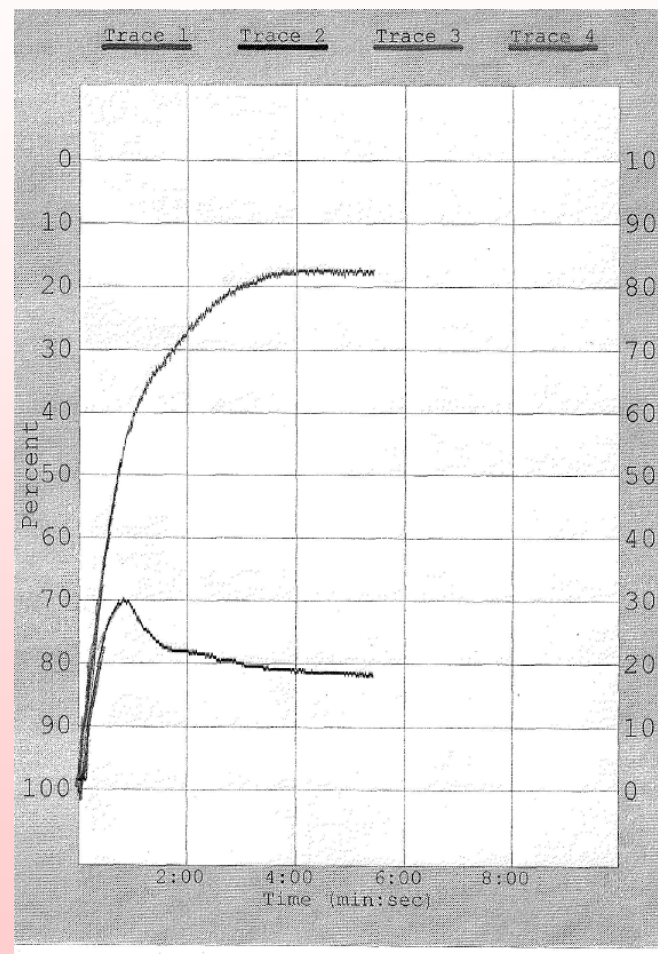
Trace	1	2
Instrument	OPT	OPT
Reagent	ADP	ADP
Stirrer	2	0.2
Gain	1000	1000
Amplitude	75%	19%
Slope	67	33
Lag Time	0:06	0:12
Area Under	268.8	35.8





# Пример гиперагрегации. Индуктор - АДФ

Trace	1	2
Instrument	OPT	OPT
Reagent	ADP	ADP
Stirrer	2	0.2
Gain	1000	1000
Amplitude	84%	29%
Slope	88	54
Lag Time	0:05	0:10
Area Under	381	102.8



# Нарушения агрегации тромбоцитов

- ❖ Наследственные (**врожденные**) ТЦ-патии - редко,
  - ❖ Приобретенные нарушения агрегации тромбоцитов - довольно часто:
    - ❖ на фоне приема аспирина, НСПВ и анальгетиков;
    - ❖ при лечении адреноблокаторами, антагонистами кальция, ксантинами и др., иногда - после приема алкоголя;
    - ❖ на фоне некоторых заболеваний (почечная недостаточность, гемобластозы, интоксикации и др.)
-

# Уровень фибриногена

**Клоттинг-методика** (на коагулометре). Норма 2-4 г/л.

- ↓ - **гиперпотребление** (ДВС, травмы, ожоги, состояние после кровотечения), шок, тяжелый токсикоз, лечение фибринолитиками);
- **тяжелая** патология печени ...

«Гипокоагуляция» - при уровне фибриногена  $< 1,0$  г/л

АЧТВ и ПВ НЕ ЗАВИСЯТ от уровня фибриногена, если он  $> 1-1,5$  г/л

---

## Тромбиновое время (ТВ)

**«Фибриноген + антитромбины»**

- гипофибриногенемия (дисфибриногенемии)
- действие гепарина, ПДФ, парапротеинов...

**Применение** - для контроля терапии гепарином и фибринолитиками  
- для дифференциации причин удлинения АЧТВ / ПВ

---

# важнейшие причины расстройств гемостаза

## Кровоточивость

Дефекты ТЦ звена

Дефицит  
плазменных  
коагуляционных  
факторов и vWF

Действие  
антикоагулянтов

Нарушение  
сосудистой  
стенки

Гиперактивный  
фибринолиз



## Тромбозы

Избыток и/или  
гиперактивность  
плазменных  
факторов

Дефицит первич-  
ных антикоагулян-  
тов (АТ III, ПрС)

Повреждение  
тканей (включая  
хирургические  
вмешательства)

Обездвиженность

Онкология

# Гиперкоагуляционные состояния / тромбофилии

## Первичные (врожденные)

### Тромбогенные мутации

(Лейден, ф. II, MTHFR...)

### Первичный дефицит антикоагулянтов (AT III, ПрС, ПрS...)

### Аномалии / гиперактивность прокоагулянтов (РАПС, ф. VIII...)

## Вторичные

(на фоне заболеваний)

**Операции** (особенно на сердце, сосудах), **тяжелые травмы костей, онкозаболевания** и химиотерапия, гестозы, СКВ / **АФС**, нефротический синдром, атеросклероз, **воспаление** / сепсис, HIT, выраженное ожирение...

- + **гиперэстрогения** (беременность, роды, послеродовый период до 4 нед, прием оральных контрацептивов...)
- + ↑ гомоцистеина
- + курение...

---

**тромбофилия ≠ гиперкоагуляция**

# Что свидетельствует о склонности к тромбообразованию?

---

## КЛИНИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- повторные эпизоды Тромбоза Гл.Вен, ТЭЛА, ОИМ, ОНМК и др.
  - венозный стаз (беременность, иммобилизация, варикоз вен...)
  - васкулиты, рак, миелопролиферативные заболевания
  - прием оральных контрацептивов, длительное введение гепарина...
- 

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- тромбоцитоз ( $> 600 \times 10^9/\text{л}$ )
- выраженная гиперфибриногенемия ( $> 6-8 \text{ г/л}$ )
- присутствие ВА / АКЛ
- дефицит АТ III, Протеина С, Протеина S;
- избыток ф.VIII,
- тромбогенные мутации G1691A, G20210A...



# Лабораторные маркеры активации гемостаза

## Ранние маркеры тромбинообразования

- Фрагменты протромбина 1+2
- Комплекс тромбин-антитромбин

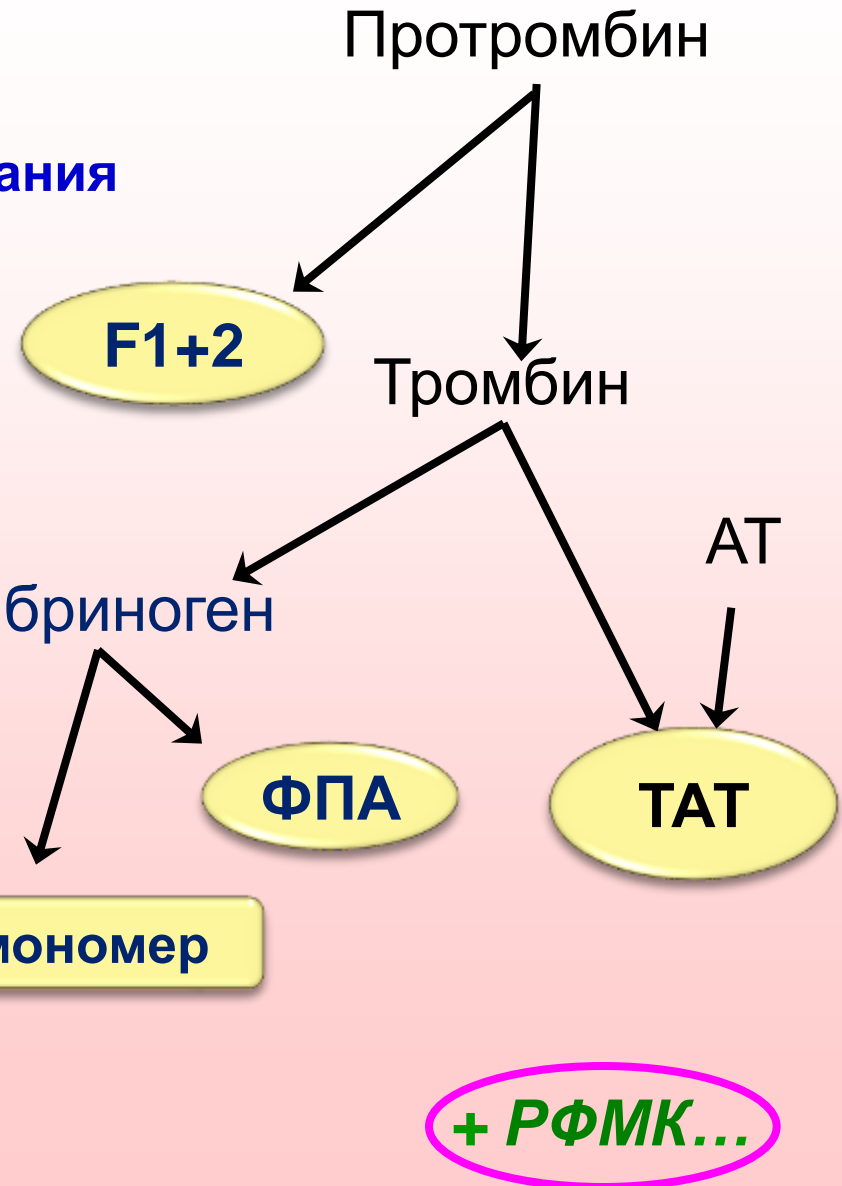
## Непосредственно в момент образования сгустка

- Фибрин-мономеры
- Фибринопептид А

## Поздний маркер



Фибрин



## ***D-димер как маркер тромбообразования и фибринолизиса.***

**Важность определения негативно/позитивно (важнее отрицательное прогностическое значение для исключения ТЭЛА, других тромбозов)**

**Важность определения D-димера в динамике при лечении НМК.**

**Уровень отсечки 250 ЕД FEU или 500 Ед DDU для взрослых небеременных**

**Низкие значения менее 100 Ед не имеют диагностического значения.**

**Высокие значения показателя требуют дополнительного тестирования после разведения (более 1500 Ед DDU (ИФА), более 3000 Ед - на автоматических анализаторах).**

**Коэффициент вариации теста - 7% внутри одного набора ИФА, до 50% при смене лота. Для автоматических анализаторов – менее 8% во всем диапазоне.**

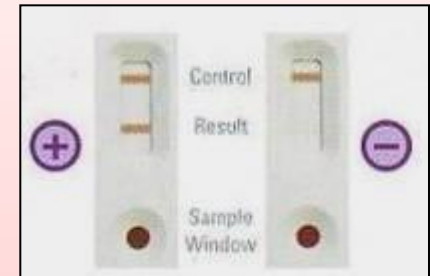
**В связи с отсутствием единого аттестованного контрольного материала в мире и РФ система Федерального контроля качества сравнивает результаты каждой лаборатории со средним всех лабораторий и между лабораториями, использующими один и тот же метод.**



# D-димер

В норме -  $< 0,5$  мкг/мл FEU,  $< 0,25$  мг/л DDU

- ❖ Наиболее надежный маркер образования / лизиса фибриновых сгустков.
- ❖ Определяется иммунохимическими методами.
- ❖ Инерционный параметр ( $T_{1/2} = 4-8$  ч).
- ❖ На результаты определения мало влияют техника взятия крови, примесь тромбоцитов и т.д.
- ❖ При подозрении на ТГВ/ТЭЛА:



Нет D-димера = нет тромбов

# Уровень D-димера может быть повышен:

---

- ❖ при инфекционных и воспалительных заболеваниях,
  - ❖ **после травм и хирургических операций**, особенно на крупных костях и суставах – *маркер риска послеоперационного тромбоза*,
  - ❖ при злокачественных новообразованиях,
  - ❖ при атеросклерозе и сахарном диабете – *признак активности процесса*.
- 
- ❖ при беременности (до 3-4 раз),
  - ❖ в пожилом возрасте,
  - ❖ при малоподвижности и иммобилизации.
- 



# ИТОГ: тесты гемостаза при склонности к тромбозам (+ анамнез и клиника!)

1. **D-димер, (РФМК)** – для исключения тромбоза / ТЭЛА...
2. **Тромбоциты** (количество), **гематокрит**
3. **Антикоагулянты** - АТ III, ПротеинС (состояние системы)
4. **Волчаночный АК, антиФЛ антитела**
5. **Генетическое тестирование** - мутации генов ф.V, протромбина
6. Ф. VIII, гомоцистеин (избыток ?)
7. Фибриноген

# Витамин D:



- 40 - 75% населения земли страдает от дефицита витамина D
  - Витамин D в основном синтезируется, когда на кожу попадает солнечный свет
- менее 5% нашей кожи открыто солнечному свету
  - мы пользуемся солнцезащитными средствами, блокирующими ультрафиолетовое излучение
- Тёмнокожим людям необходимо больше находиться на солнце,
  - чем людям со слабовыраженной пигментацией кожи
  - Людям преклонного возраста необходимо дольше находиться на солнце, чем более молодым людям.

# Витамин D: Рекомендации по тестированию и мониторингу

- При остеопорозе или при высоком риске развития остеопороза
- Все онкологические пациенты, проходящие лечение
- Все пациенты с гипертензией или кардиологическими рисками
- Беременные и пациенты с риском разрежения кости
- Диабетические пациенты и пациенты с ожирением
- Пациенты с хроническими заболеваниями почек
- Пациенты с аутоиммунными заболеваниями или высоким риском развития таких заболеваний
- Пациенты, перенёсшие операции по пересадке органов
- Пациенты, проходящие лечение кортикостероидами
- ВИЧ-инфицированные

1. Dawson-Hughes B et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 21, 1151 – 1154, 2010.  
2. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease. *AmJ Kidney Dis* 42: S1 – S202, 2003 (suppl 3) Guideline 7. Prevention and Treatment of Vitamin D Insufficiency and Vitamin D Deficiency in CKD Patients.  
3. Souberbielle et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice, *Autoimmun Rev* (2010), doi:10.1016/j.autrev.2010.06.009.

# Функции витамина В<sub>12</sub>

- важная составная часть многих ферментных систем,
- участвует в обмене белков, жиров и углеводов, способствуя снабжению организма энергией.
- необходим для нормального кроветворения и созревания эритроцитов
- необходим для нормального процесса деления клеток и образования ДНК.
- Он влияет на состояние быстро обновляющихся тканей - крови, иммунной системы, кожи и слизистой желудочно-кишечного тракта.
- .

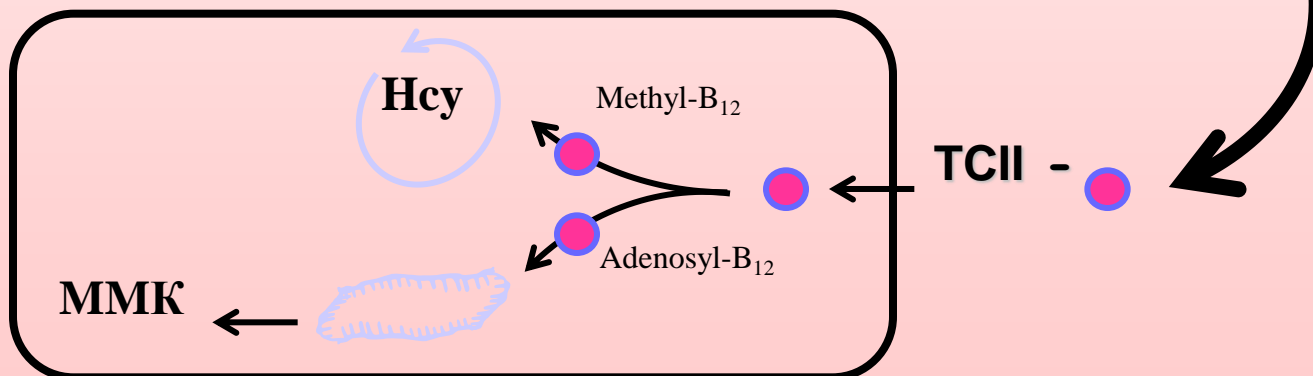
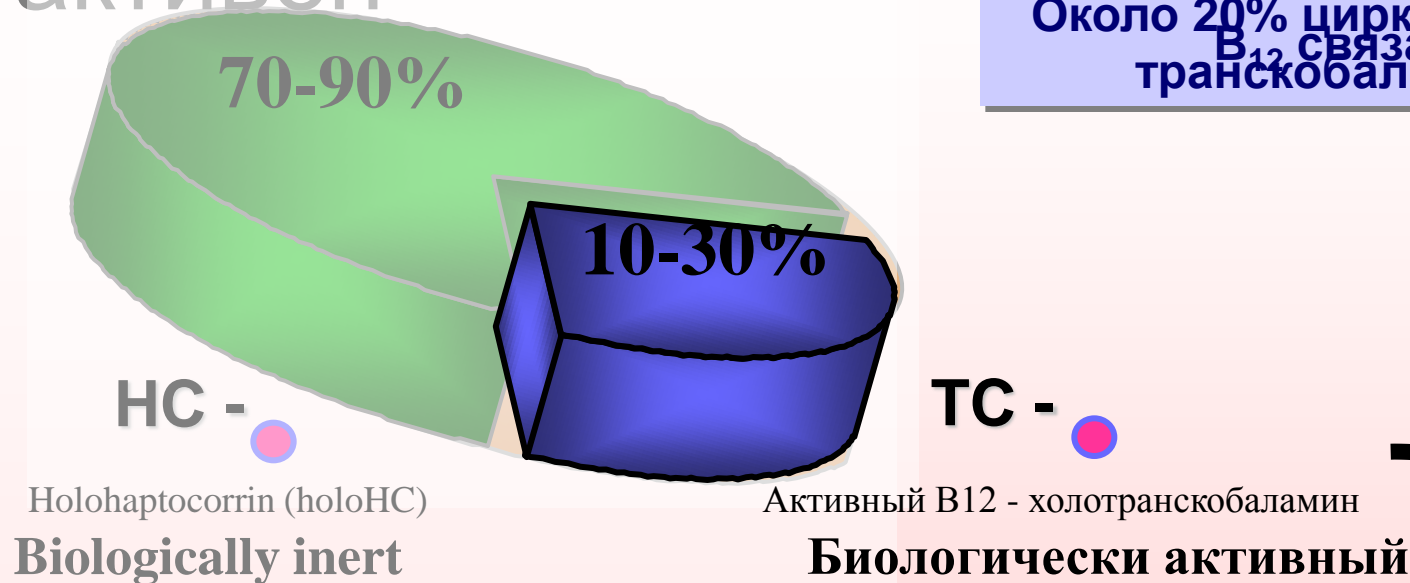
# Факторы риска дефицита витамина B12

- Нарушение абсорбции
  - Болезнь Крона
  - Операции на кишечнике или брюшной полости, которые могут затронуть образование внутреннего фактора или нарушить абсорбцию
  - Кишечные инфекции (бактериальные, лямблиоз, паразитарные)
- Недостаточное производство внутреннего фактора
  - Атрофический гастрит
  - Пернициозная анемия
- Генетические нарушения
  - Дефицит транскобаламина II
- Недостаточное потребление
  - Алкоголики
  - Пожилые люди
  - Вегетарианцы
- Длительный прием препаратов
  - Гистаминовых блокаторов
  - Метаформин
  - Ингибиторов протонной помпы

**Пациенты с риском развития дефицита витамина B12 : вегетарианцы, пожилые люди, пациенты с кишечными заболеваниями , беременные**

# Не весь витамин В<sub>12</sub> в сыворотке активен

Около 20% циркулирующего В<sub>12</sub> связано с транскобаламином.





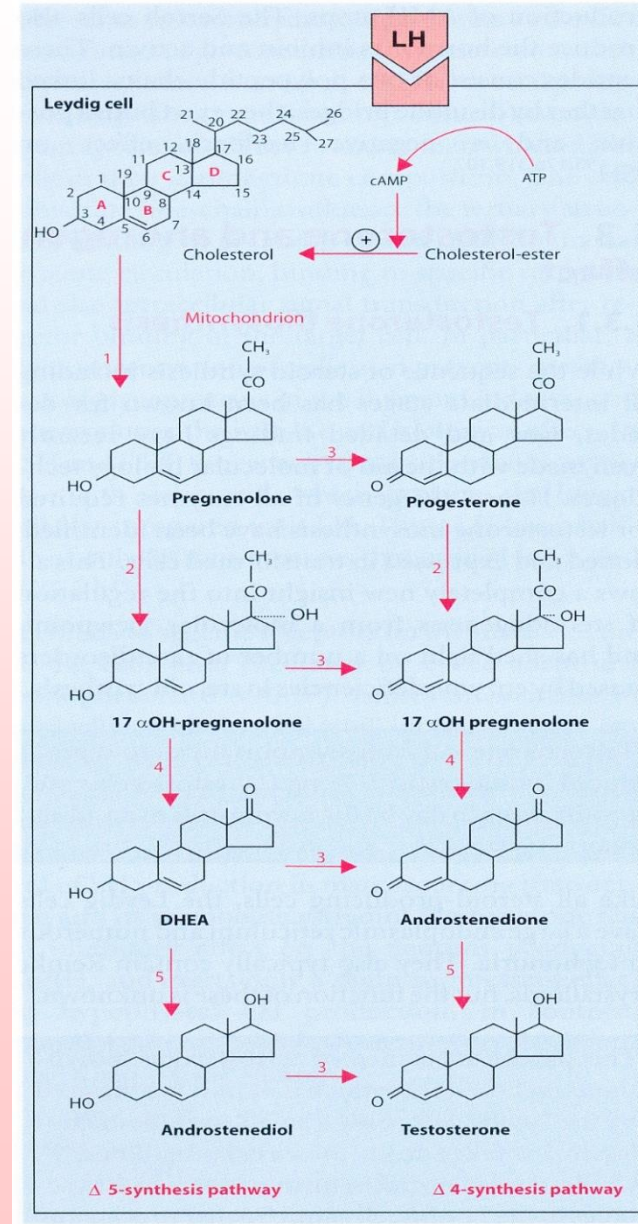
## ARCHITECT Active B<sub>12</sub>



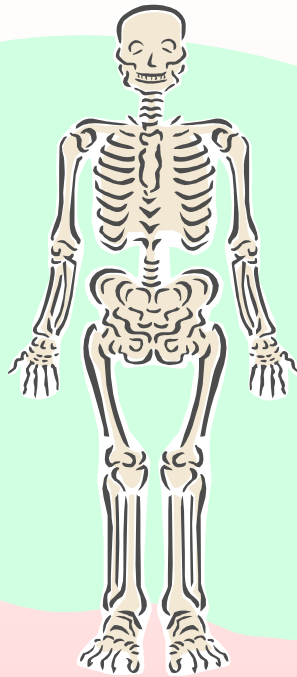
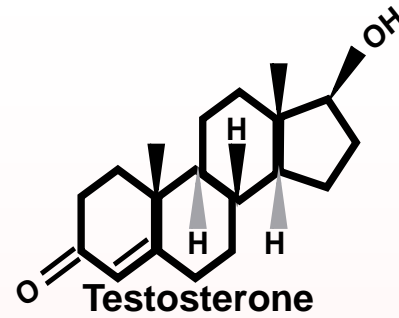
Самый ранний параметр определения дефицита В<sub>12</sub>

# Синтез тестостерона в клетках Лейдига

- У взрослых мужчин ежедневно в клетках Лейдига продуцируется 5-7 мг тестостерона
- Субстрат для синтеза тестостерона – холестерин
- 5 этапов с различными энзимами обеспечивают синтез холестерина в тестостерон

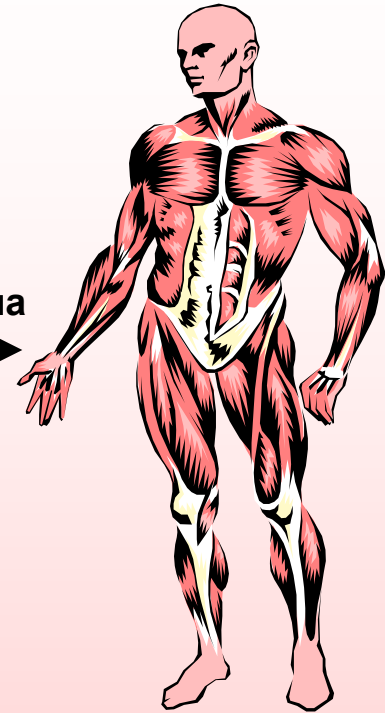


# Эффекты Т



Кость

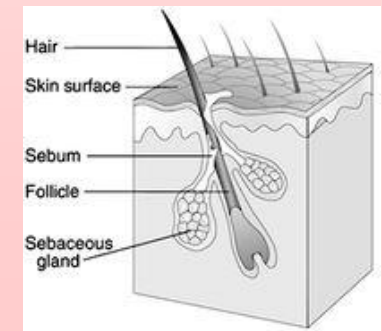
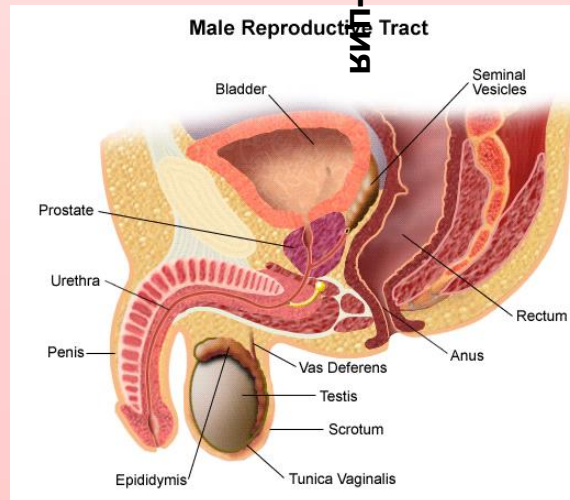
Композиция тела, сила  
и масса мышц



Когнитивная и сексуальная ф-ции, настроение



Сексуальная ф-ция



# Эффекты тестостерона

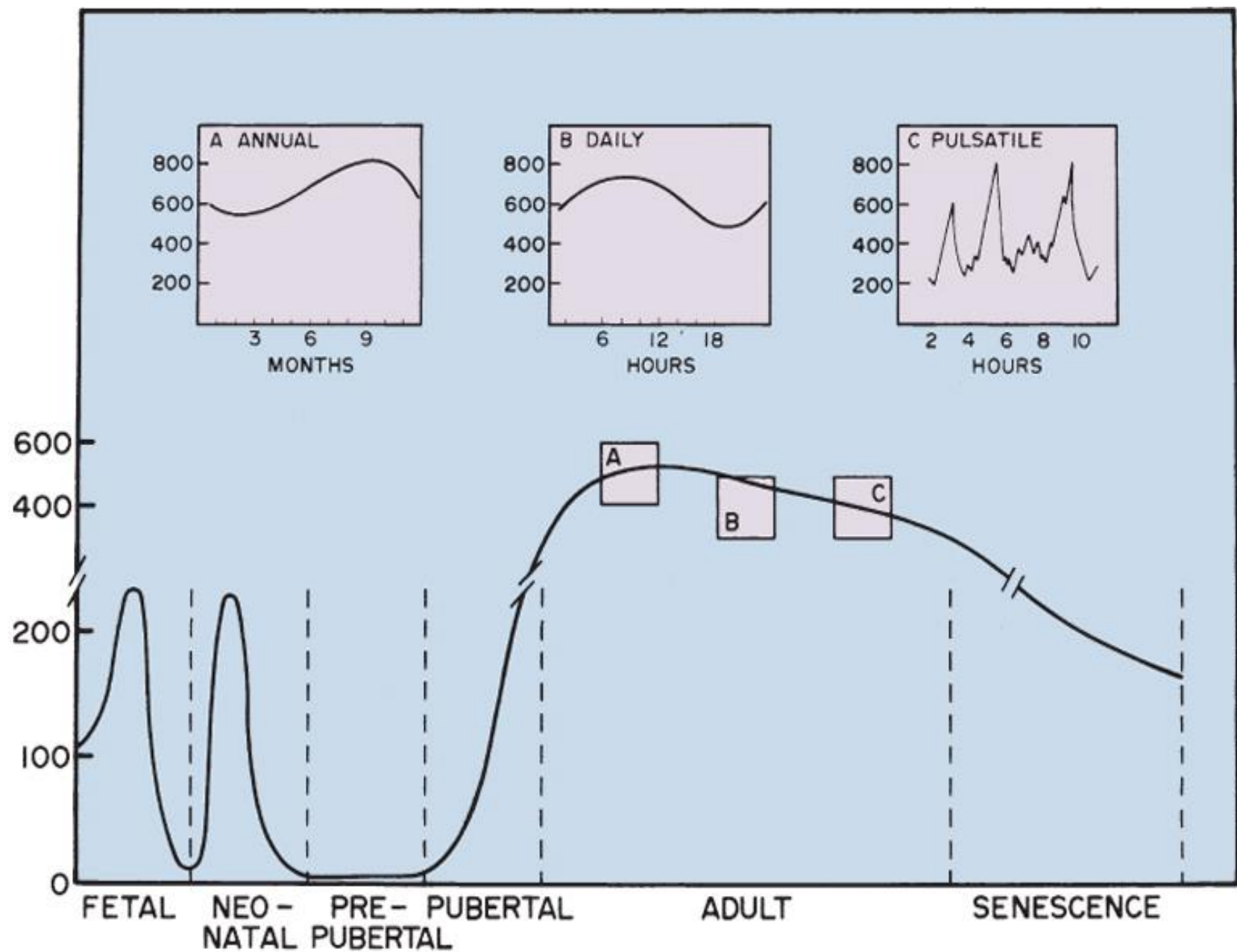
1. Тестостерон обеспечивает -- рост, дифференцировку и функцию органов репродуктивной системы.
2. Нормальная репродуктивная функция у взрослых поддерживается продолжающейся секрецией тестостерона.
3. Т стимулирует транспорт и поставку спермы (обеспечение сперматогенеза)
4. Сексуальные характеристики— в течение взросления, Т стимулирует половое оволосение; мутацию голоса по мужскому типу, секреторную функцию сальных желез (развитие вторичных мужских половых признаков)

# Эффекты тестостерона

1. Стимуляция развития гениталий
2. Формирование либидо (как у мужчин, так и у женщин)
3. Стимуляция секреции эритропоэтина
4. Анаболические эффекты: увеличивает анаболизм протеина, преимущественно мышц, формирование кости по мужскому типу, эритроцитоз
5. Эффекты на сосуды: вазодилатация и усиление кровотока в тканях, в том числе – в кавернозных артериях, увеличивает наполнение пенильных тел (роль в эректильной функции)

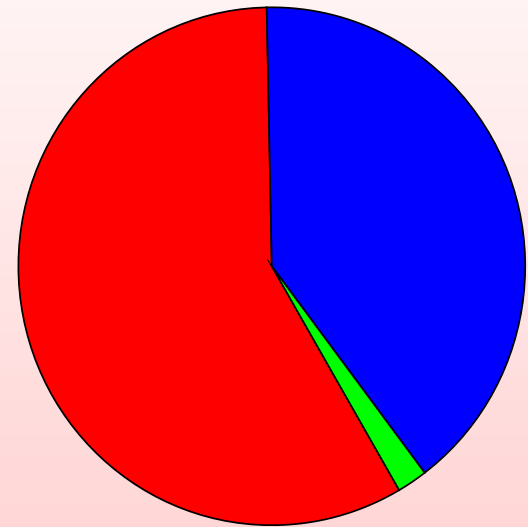


TESTOSTERONE (ng/dl)

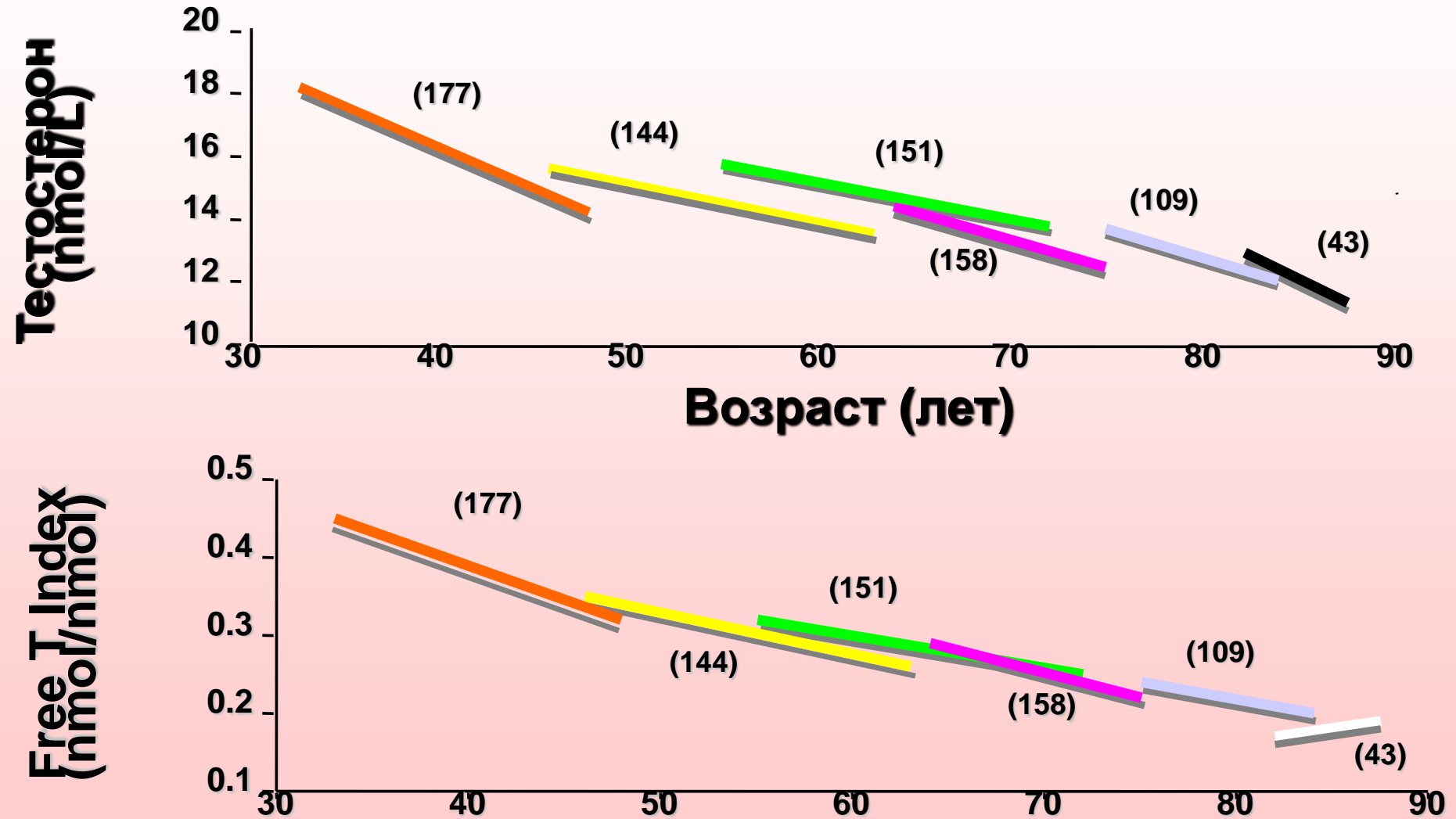


# Транспорт тестостерона в кровотоке

- 60% в связи с секс-связывающим глобулином (ССГ)
- 38% в связи с альбумином
- 2% свободный



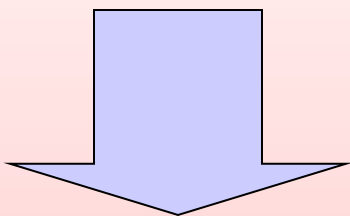
# Изменение уровня тестостерона в долговременных исследованиях



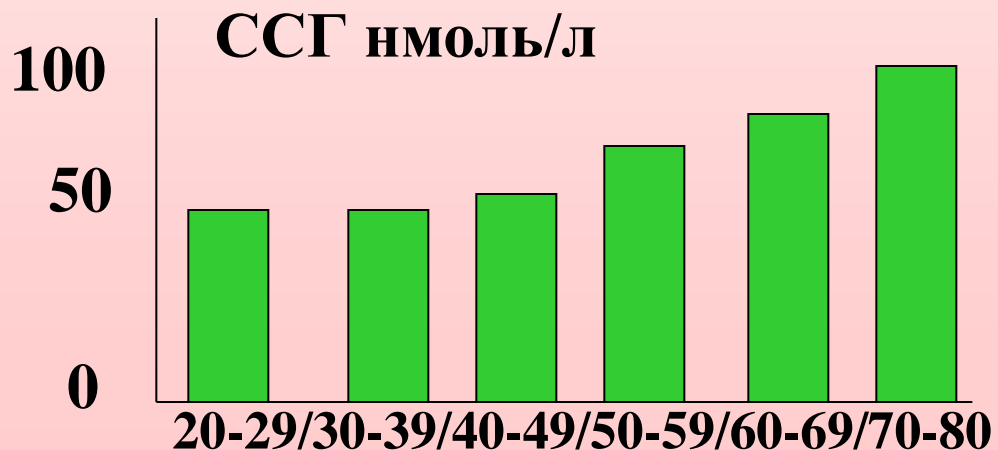
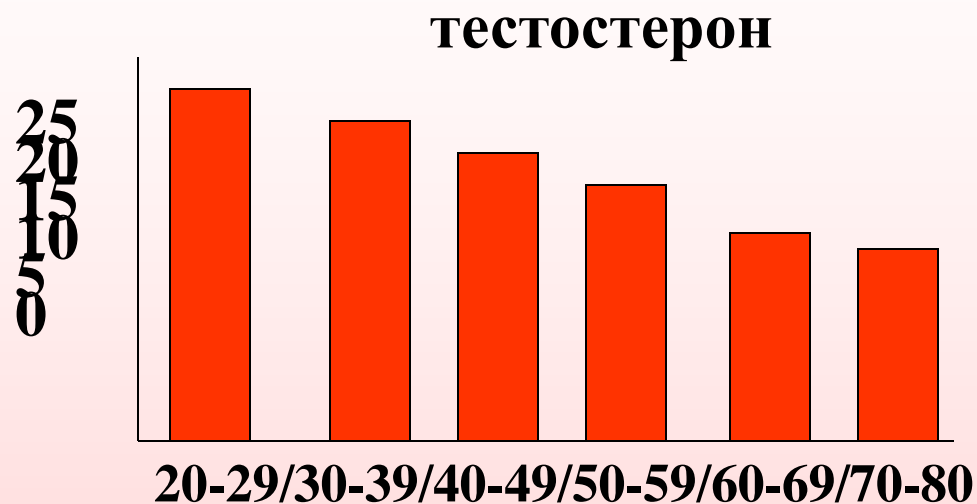


# Колебания уровня тестостерона с возрастом у мужчин

С 30 лет уровень тестостерона снижается, а уровень ССТГ увеличивается



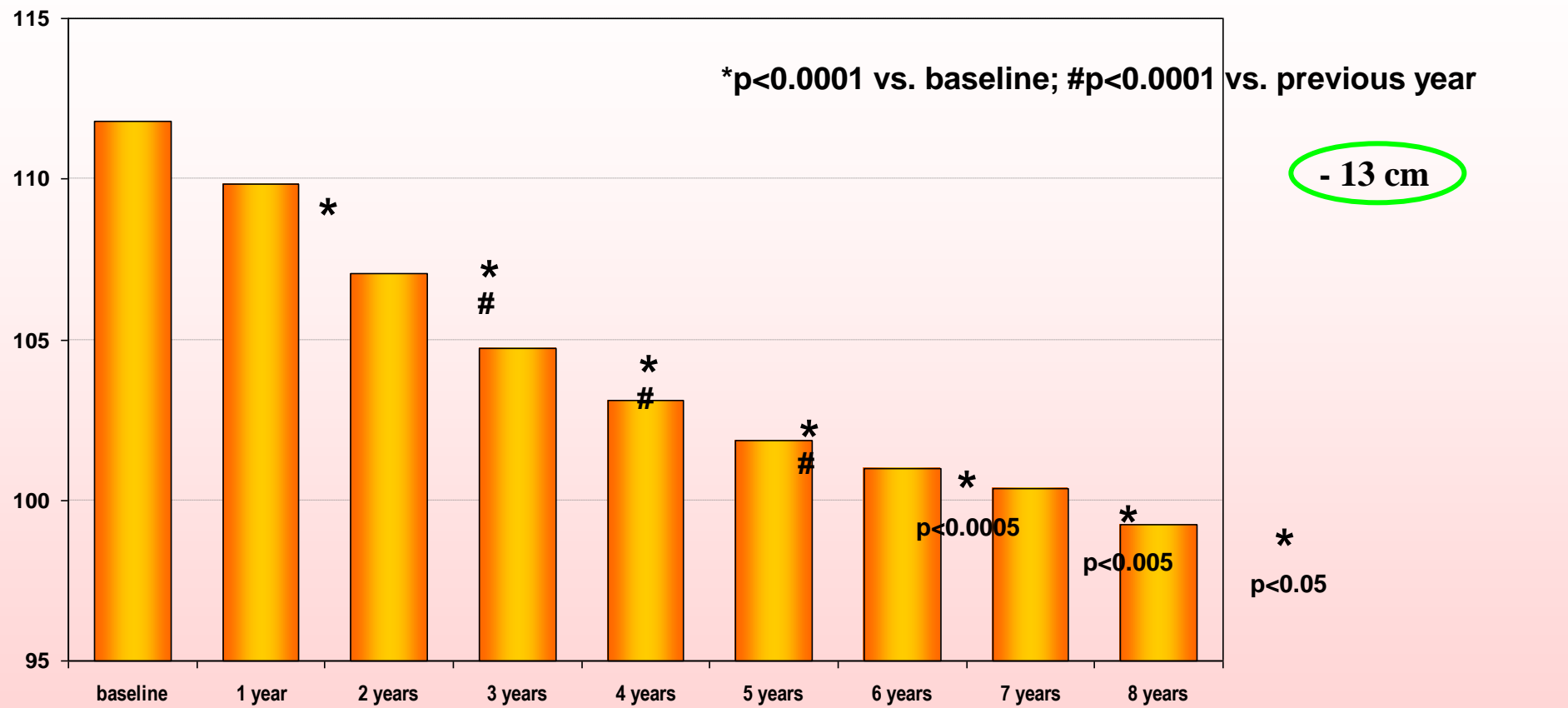
Уровень биологически активного т.е. свободного тестостерона ↓ на 2,3%



## ***Когда начинать лечение вторичного гипогонадизма?***

- **Наличие симптомов снижения сексуальной функции**
- **прибавка веса,**
- **гипергликемия/скрытая форма сахарного диабета, гиперхолестеринемия**
- **Тестостерон ниже 12 нмоль/л**
- **Контроль через 1 месяц и после достижения целевого уровня раз в 6 мес.**

**Waist circumference (cm) in 77 hypogonadal men with a CVD history receiving continuous treatment with testosterone undecanoate injections**



*The only way to keep healthy is to eat what you don't want, drink what you don't like and do what you would rather not do*

Единственный способ сохранить здоровье - это есть то, что вы не хотите, пить то, что вам не нравится, и делать то, что вы предпочли бы не делать

*Mark Twain*

1835 -1910

