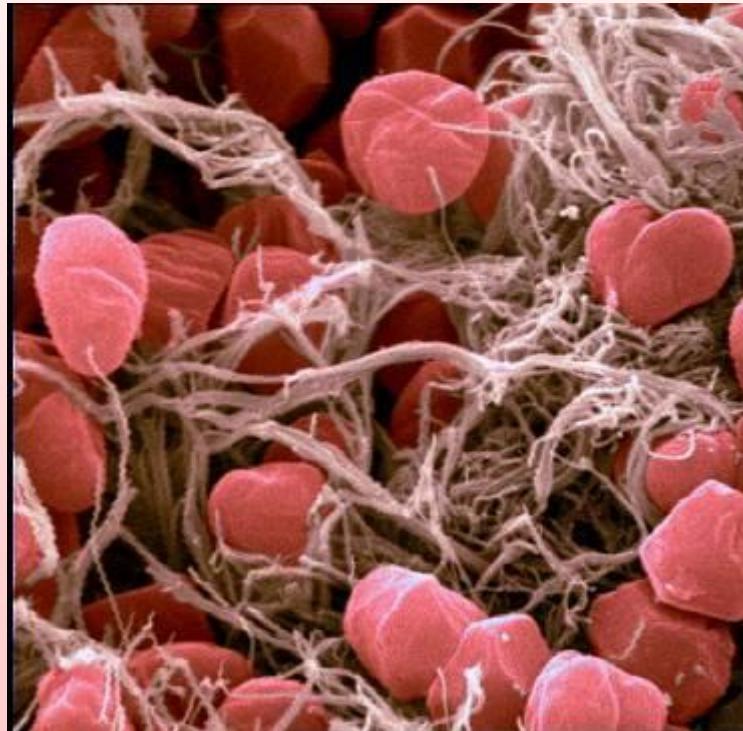


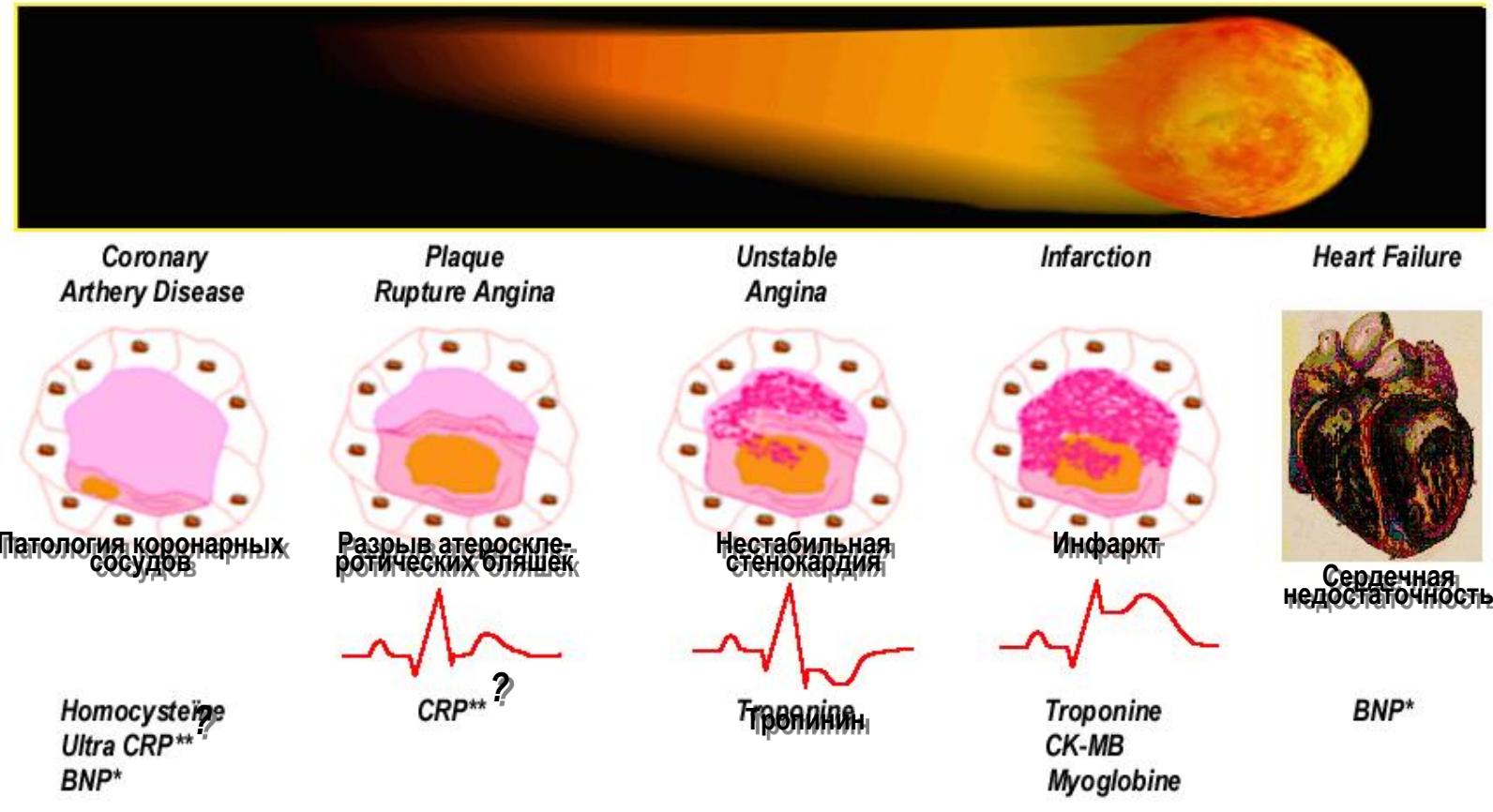
Особенности лабораторного обследования лиц пожилого и старческого возраста



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)

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

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

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;

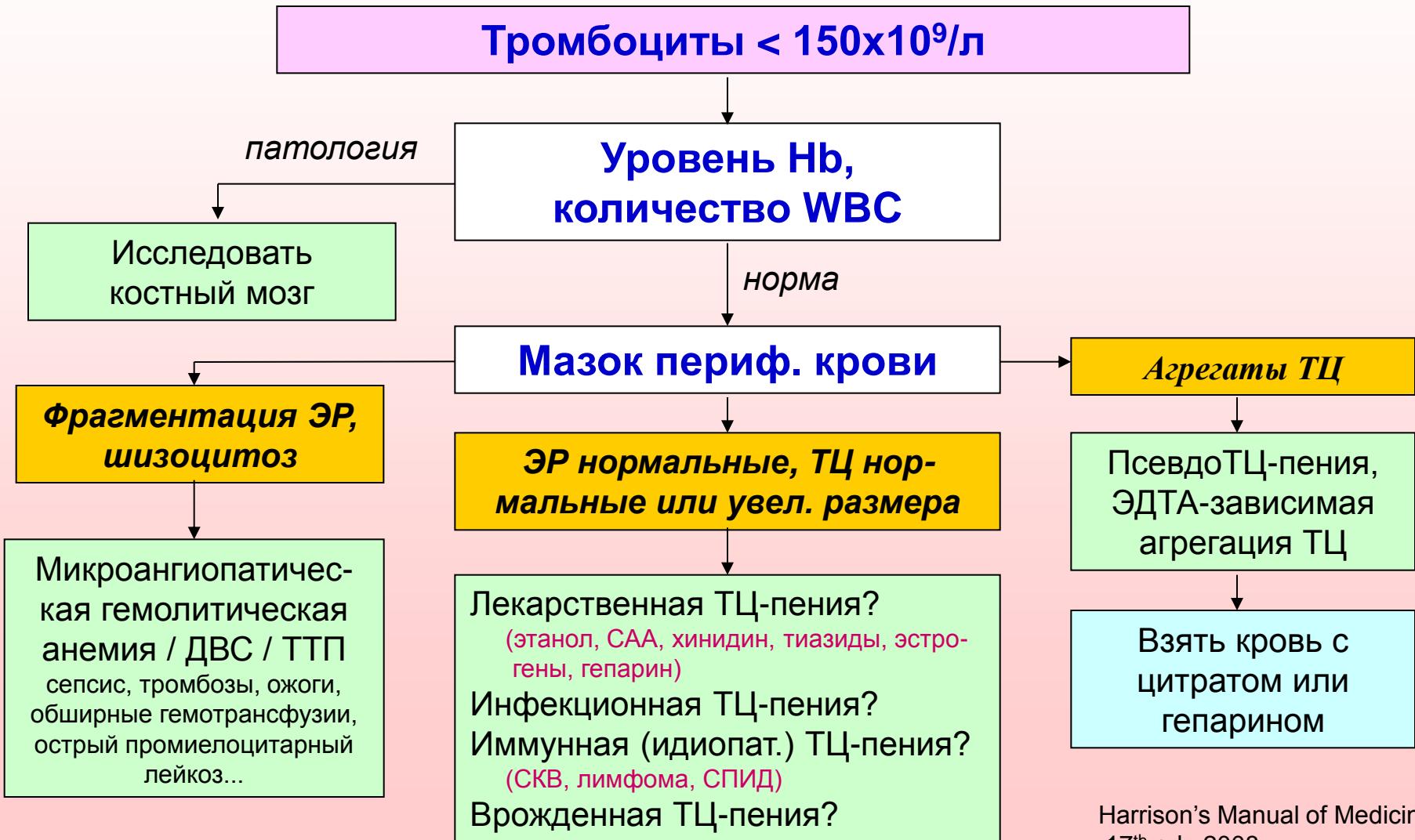
 - ❖ **Количество тромбоцитов** - в крови с ЭДТА.
 - ❖ Адекватное перемешивание сразу после взятия.
Не охлаждать !!!
 - ❖ **Активность тромбоцитов** – по спонтанной / индуцированной агрегации.
-

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 реальн = 1-2% - важно для оценки динамики количества ТЦ.**

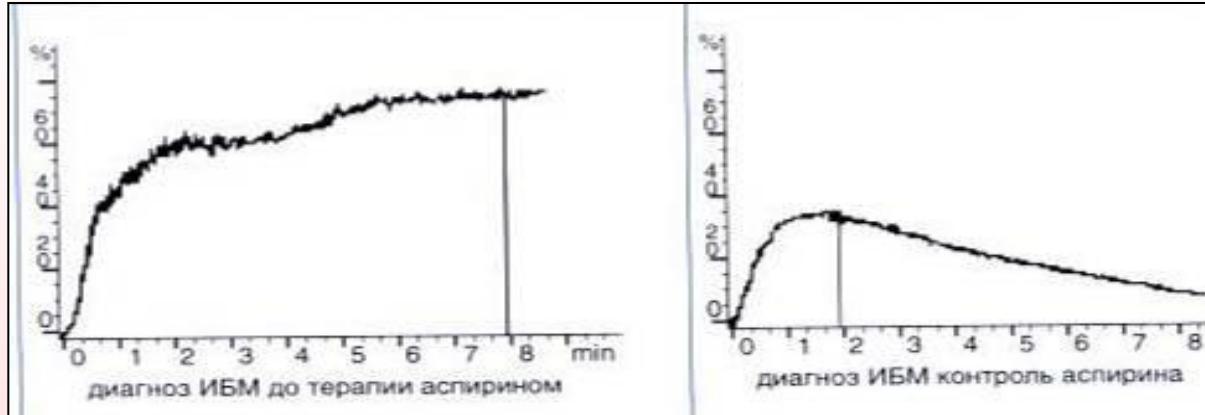


Алгоритм лабораторного исследования при тромбоцитопении



Агрегация тромбоцитов

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



BIOLA – 230 LA



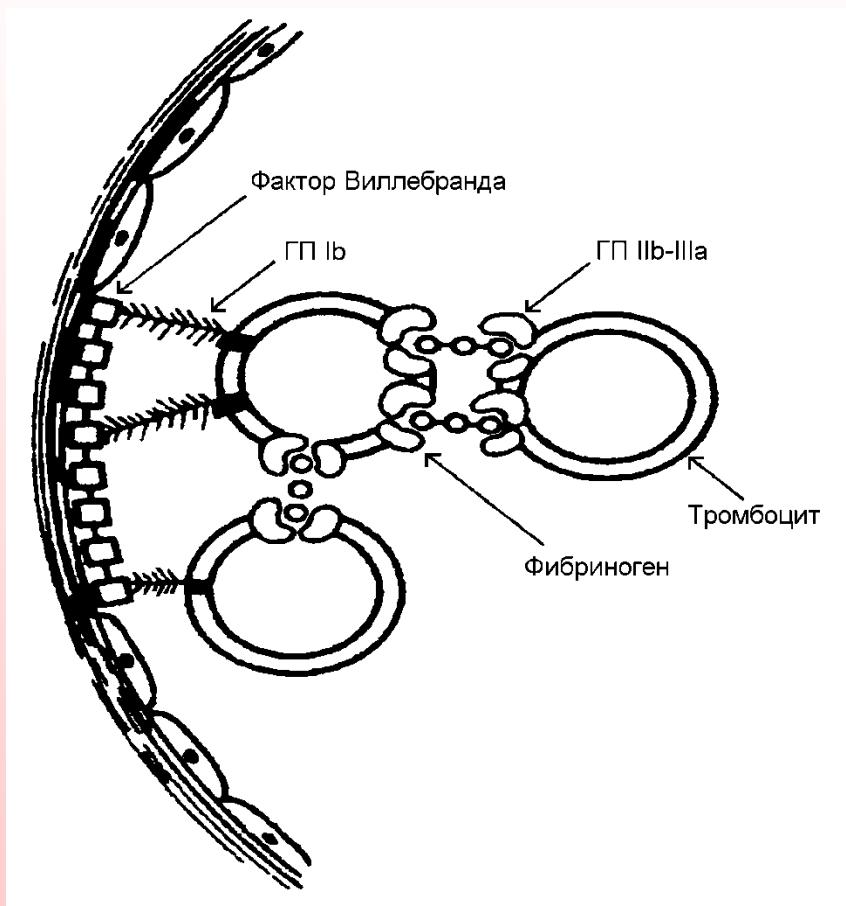
CHRONO-LOG



- 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

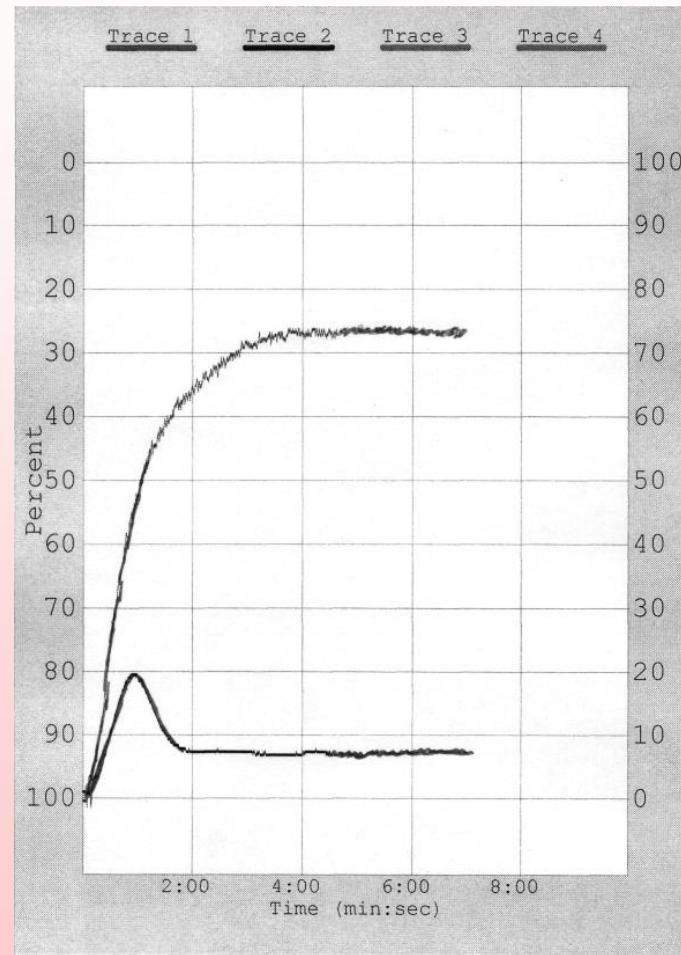
Адгезия и агрегация тромбоцитов.



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

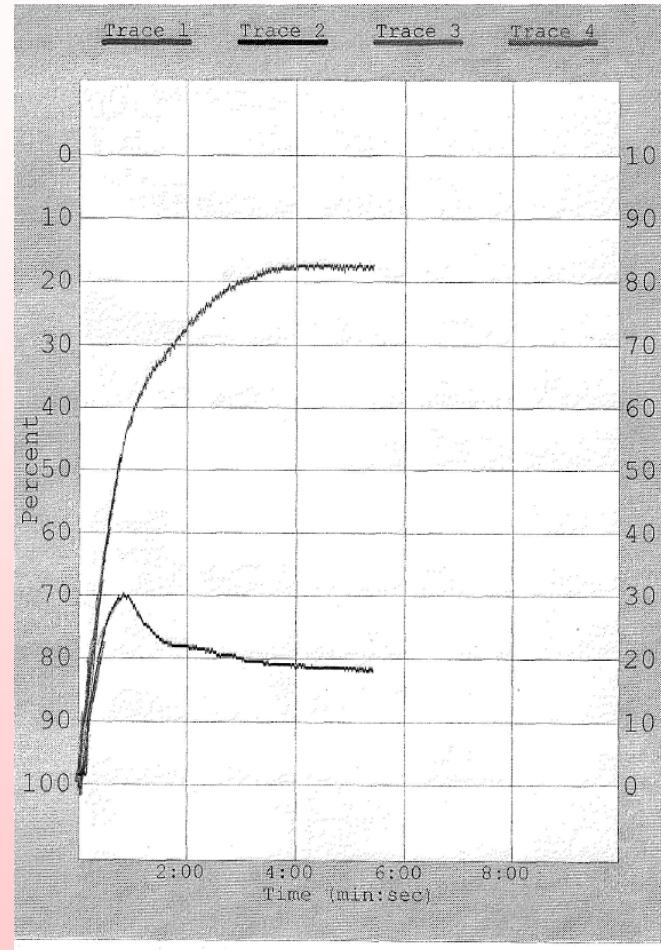
Пример нормальной агрегатограммы. Индуктор - АДФ

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, ксантиными 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 (AT 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, НИТ, выраженное ожирение...

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

тромбофилия ≠ гиперкоагуляция

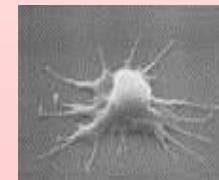
Что свидетельствует о склонности к тромбообразованию?

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 AT III, Протеина С, ПротеинаS;
- избыток ф.VIII,
- тромбогенные мутации G1691A, G20210A...



Лабораторные маркеры активации гемостаза

Ранние маркеры тромбонообразования

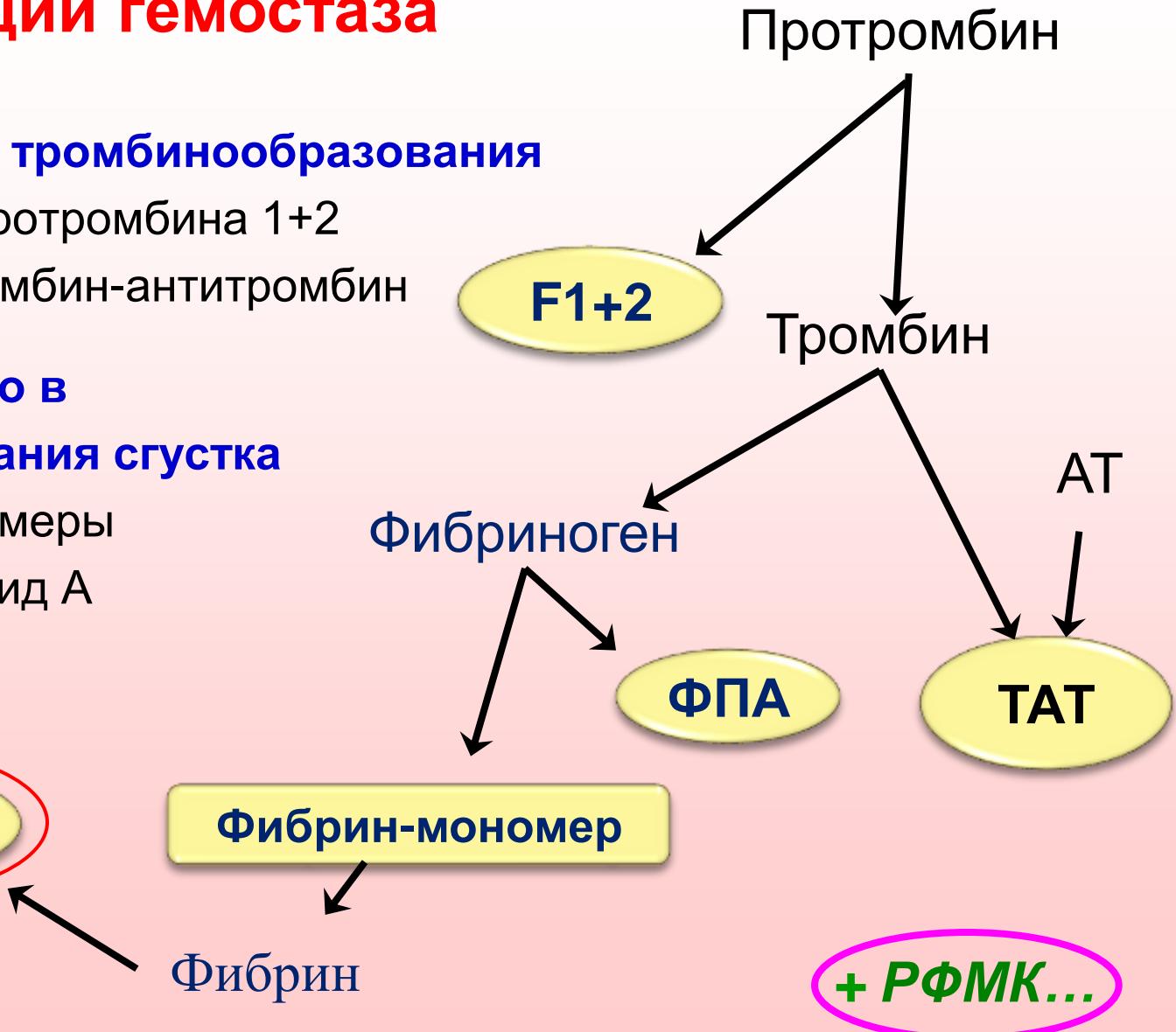
- Фрагменты протромбина 1+2
- Комплекс тромбин-антитромбин

Непосредственно в момент образования сгустка

- Фибрин-мономеры
- Фибринопептид А

Поздний маркер

D-димер



D-димер как маркер тромбообразования и фибринолиза.

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.

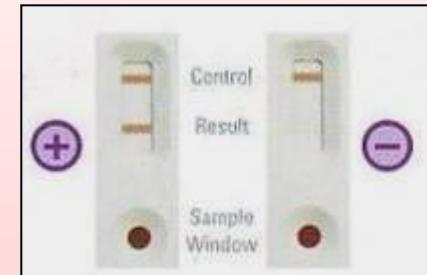
В связи с отсутствием единого аттестованного контрольного материала в мире и РФ система Федерального контроля качества сравнивает результаты каждой лаборатории со средним всех лабораторий и между лабораториями, использующими один и тот же метод.

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 кортикоステроидами
- 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. Am J 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. Soûberbielle 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 В₁₂

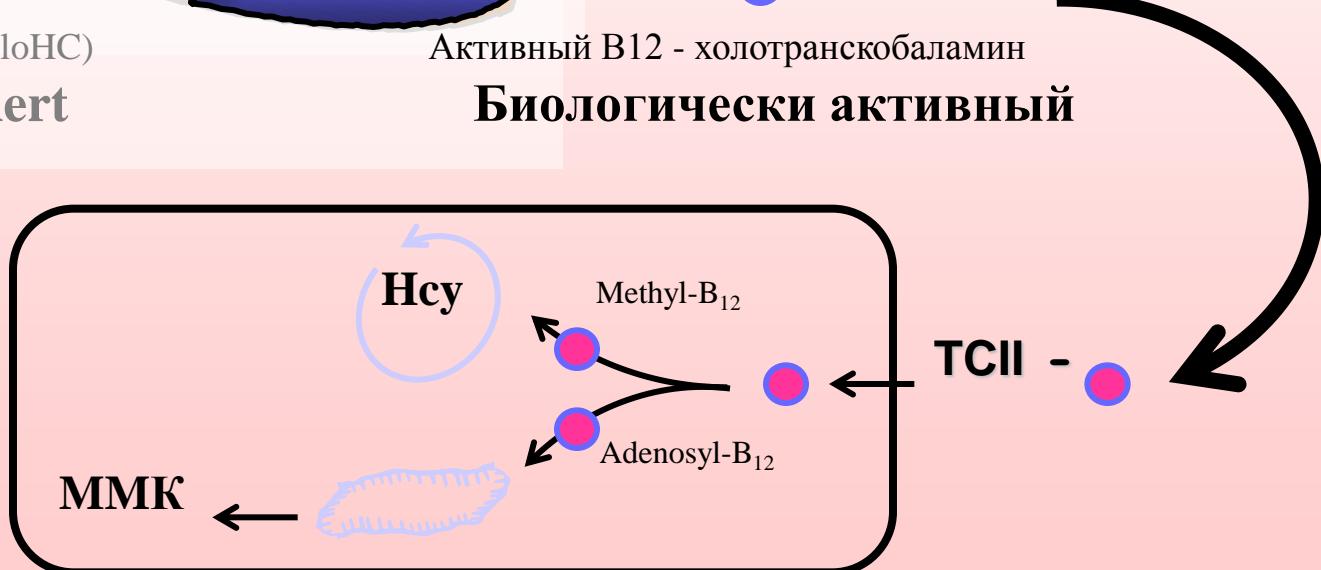
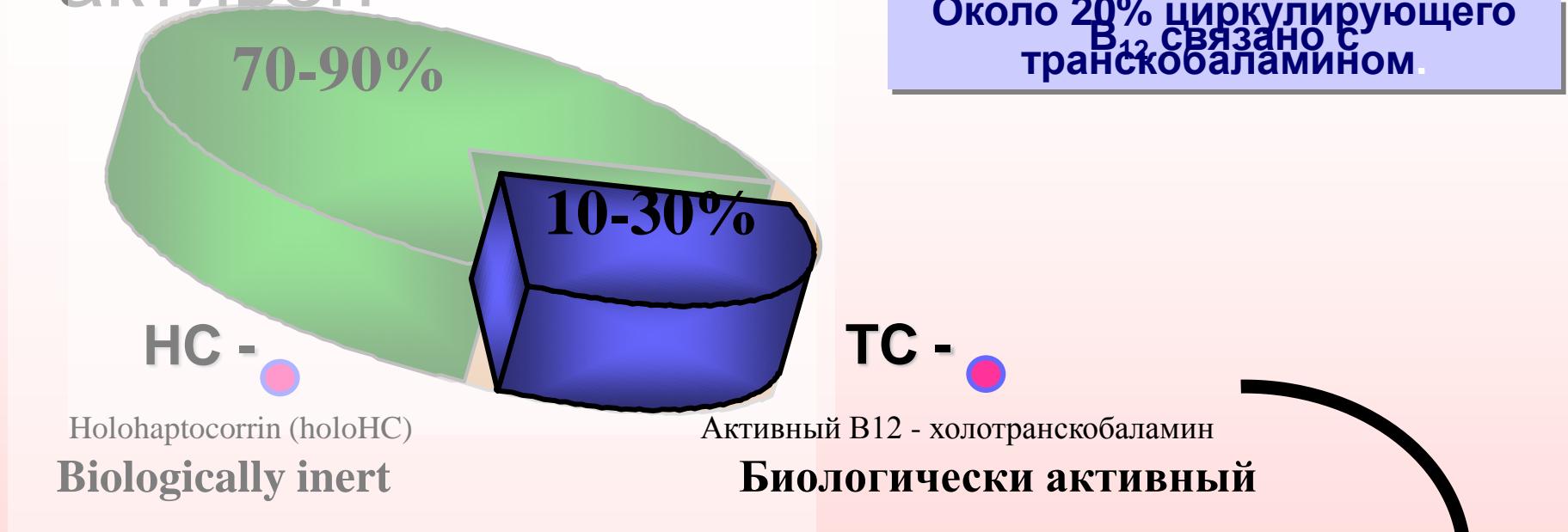
- важная составная часть многих ферментных систем,
- участвует в обмене белков, жиров и углеводов, способствуя снабжению организма энергией.
- необходим для нормального кроветворения и созревания эритроцитов
- необходим для нормального процесса деления клеток и образования ДНК.
- Он влияет на состояние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

Факторы риска дефицита витамина В12

- 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 В12 : вегетарианцы, пожилые люди, пациенты с кишечными заболеваниями , беременные

Не весь витамин B₁₂ в сыворотке активен



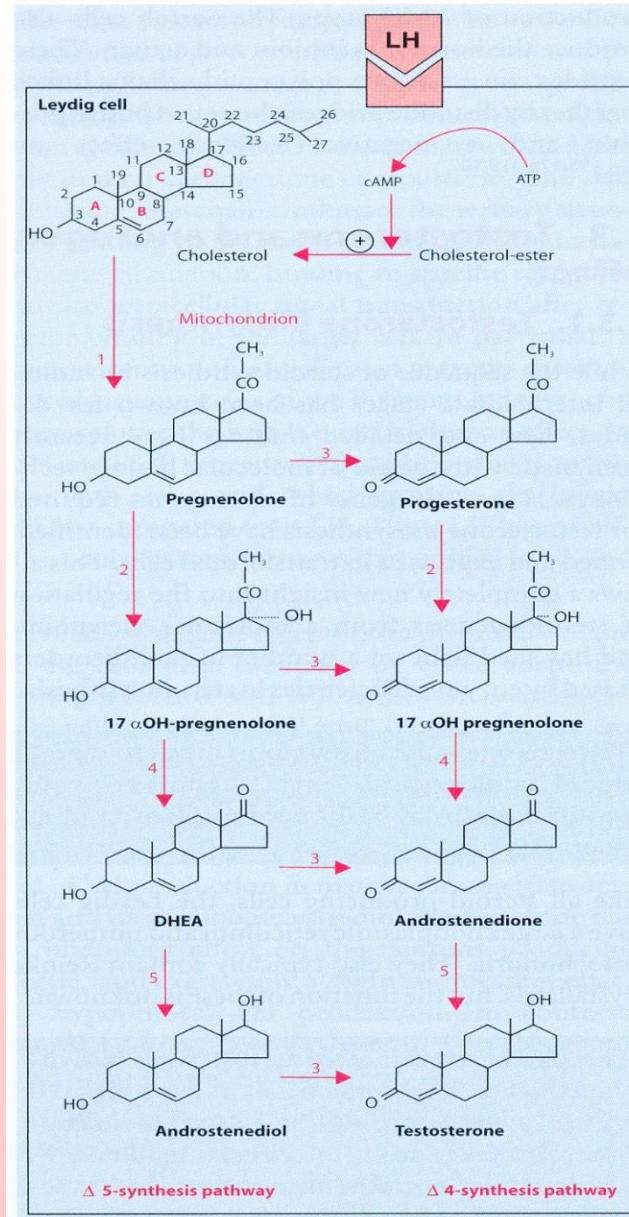
ARCHITECT Active B₁₂



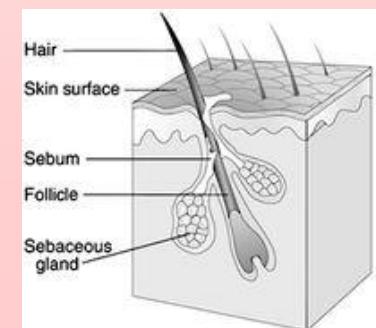
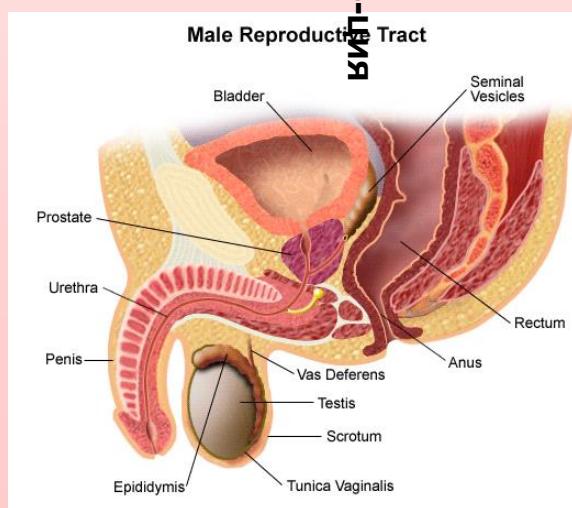
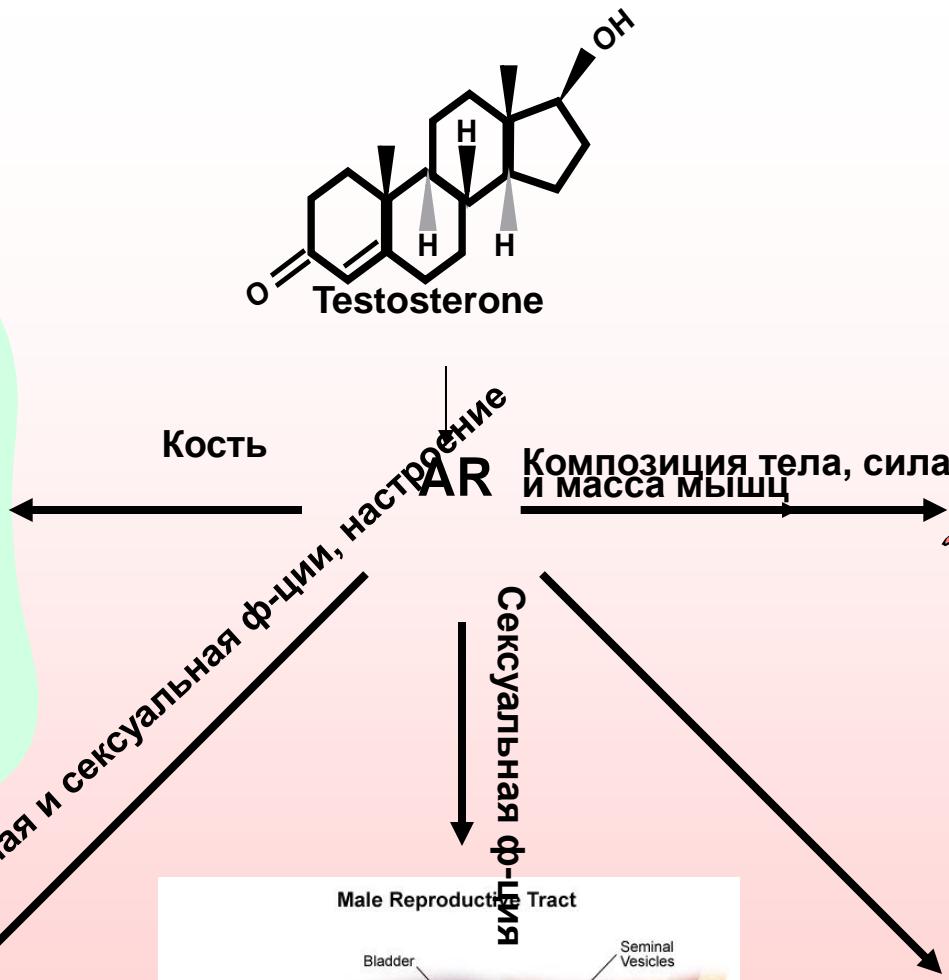
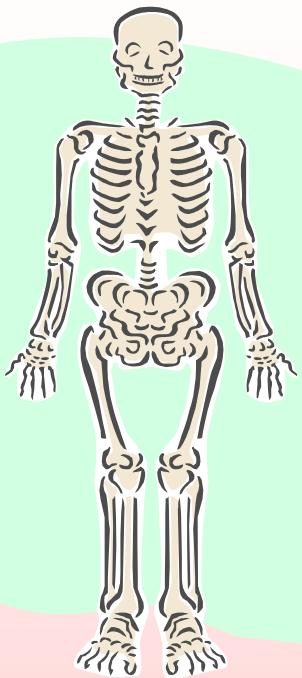
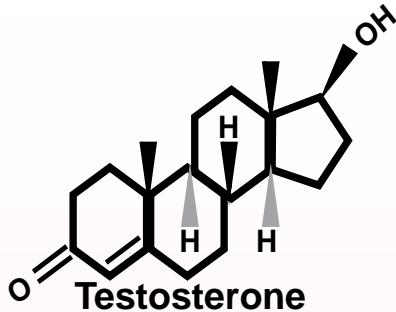
Самый ранний параметр определения
дефицита В₁₂

Синтез тестостерона в клетках Лейдига

- У взрослых мужчин ежедневно в клетках Лейдига продуцируется 5-7 mg тестостерона
- Субстрат для синтеза тестостерона – холестерол
- 5 этапов с различными энзимами обеспечивают синтез холестерола в тестостерон



Эффекты Т



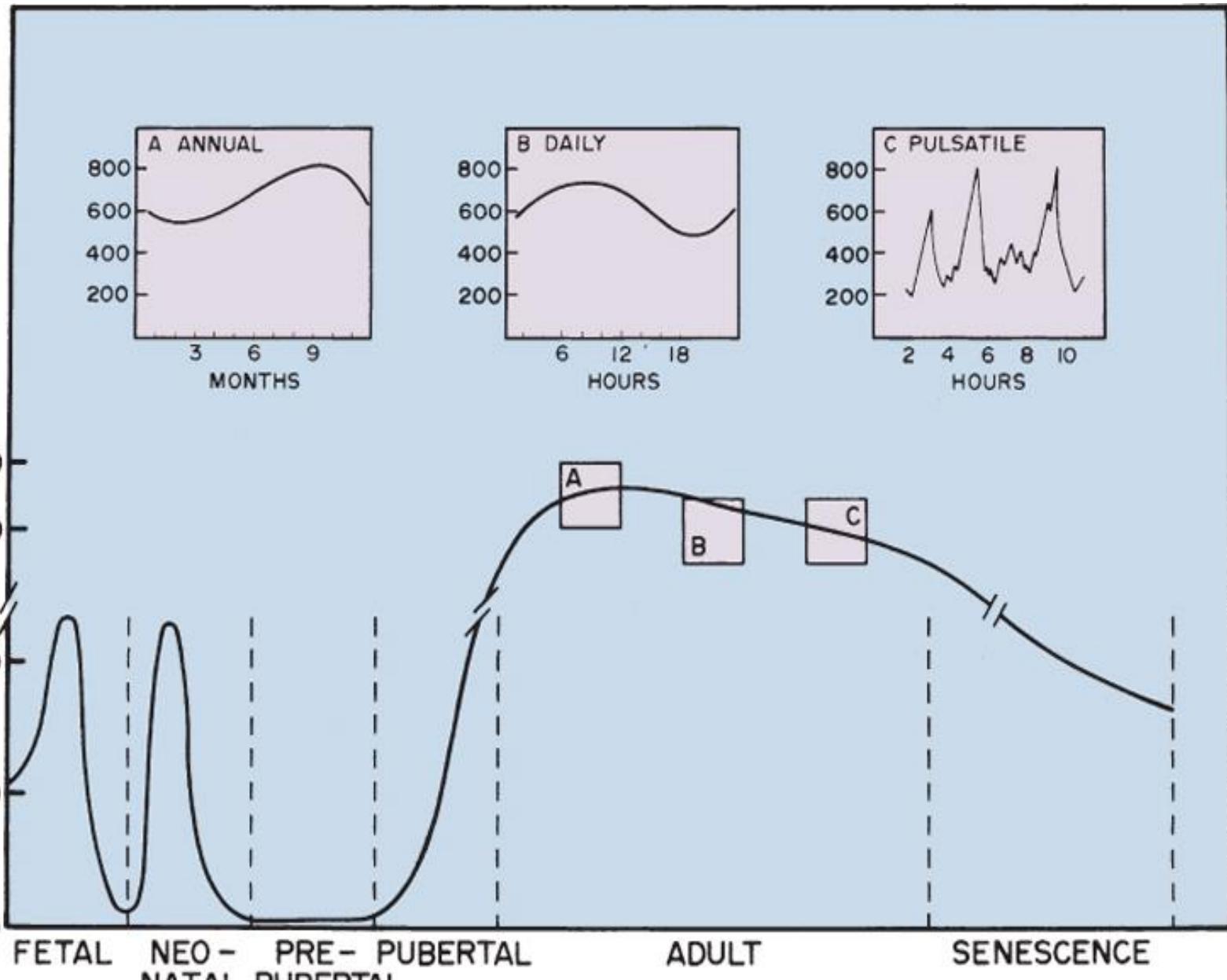
Эффекты тестостерона

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

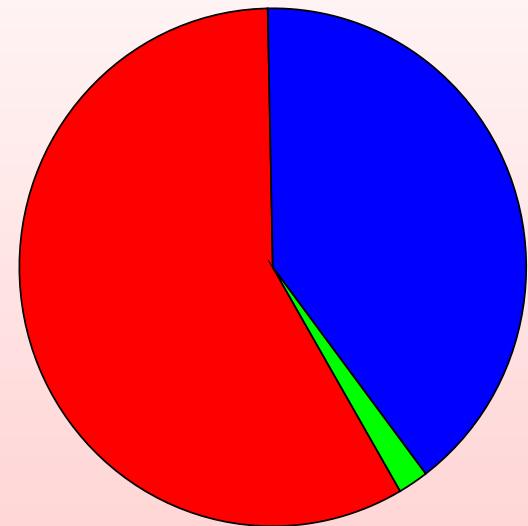
1. Стимуляция развития гениталий
2. Формирование либидо (как у мужчин, так и у женщин)
3. Стимуляция секреции эритропоэтина
4. Анаболические эффекты: увеличивает анаболизм протеина, преимущественно мышц, формирование кости по мужскому типу, эритроцитоз
5. Эффекты на сосуды: вазодилатация и усиление кровотока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

TESTOSTERONE (ng/dl)

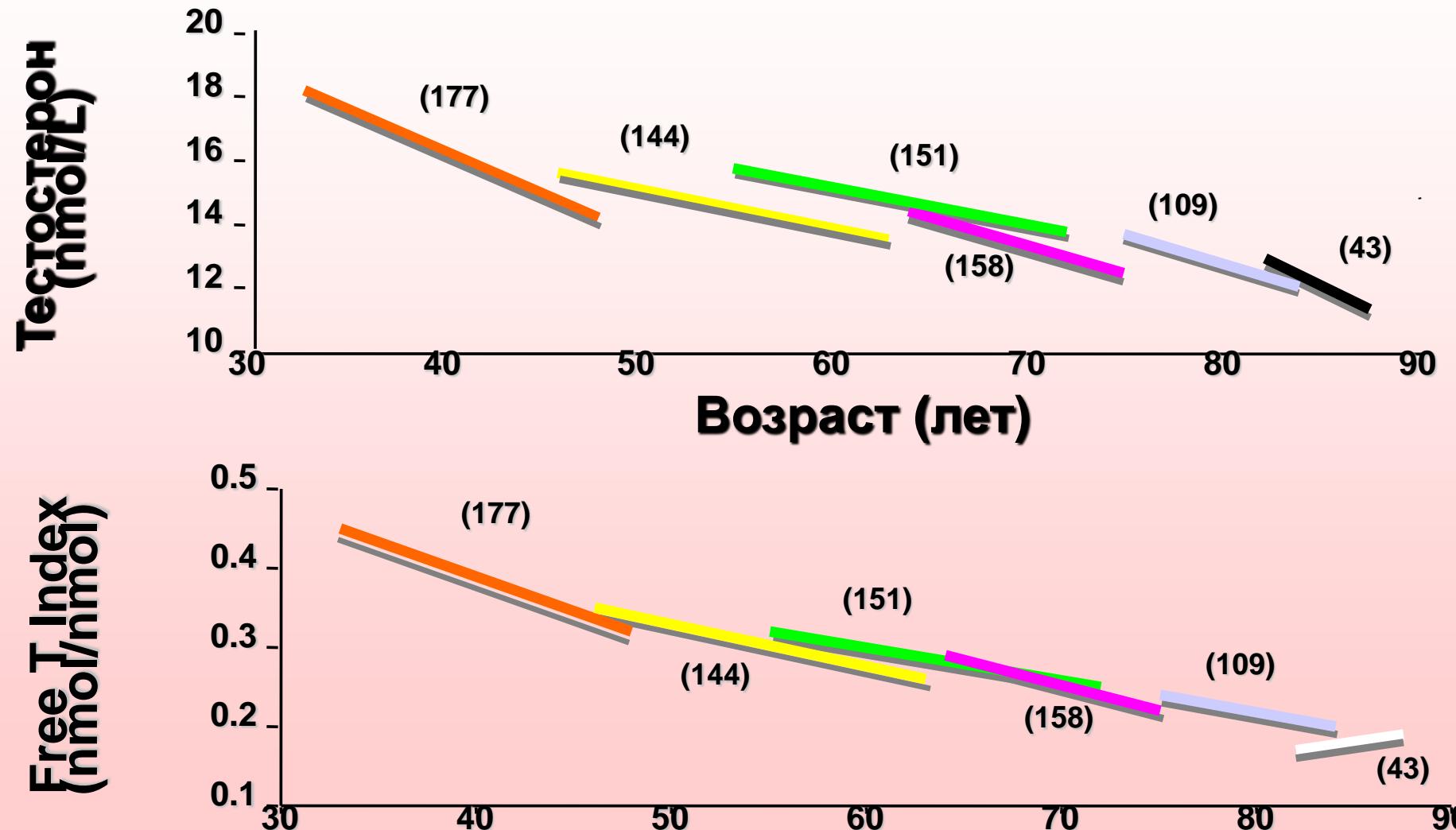


Транспорт тестостерона в кровотоке

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

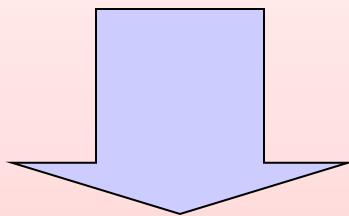


Изменение уровня тестостерона в долговременных исследованиях

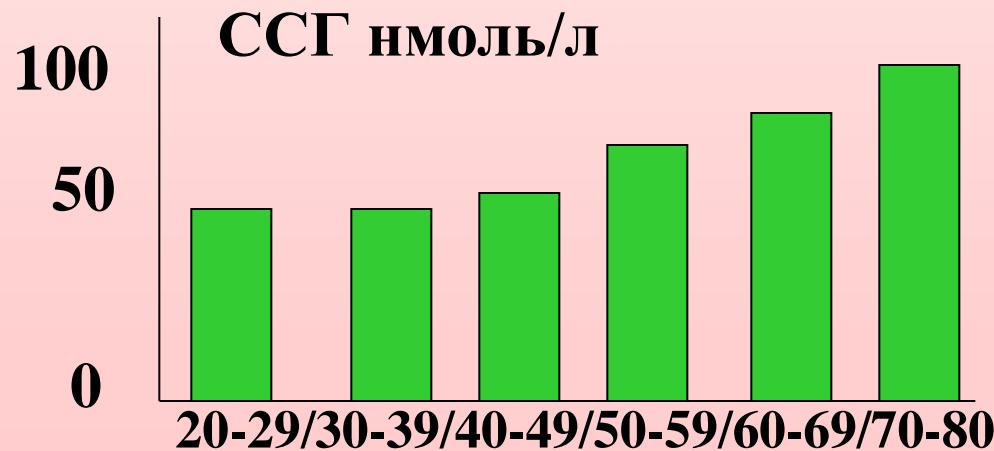
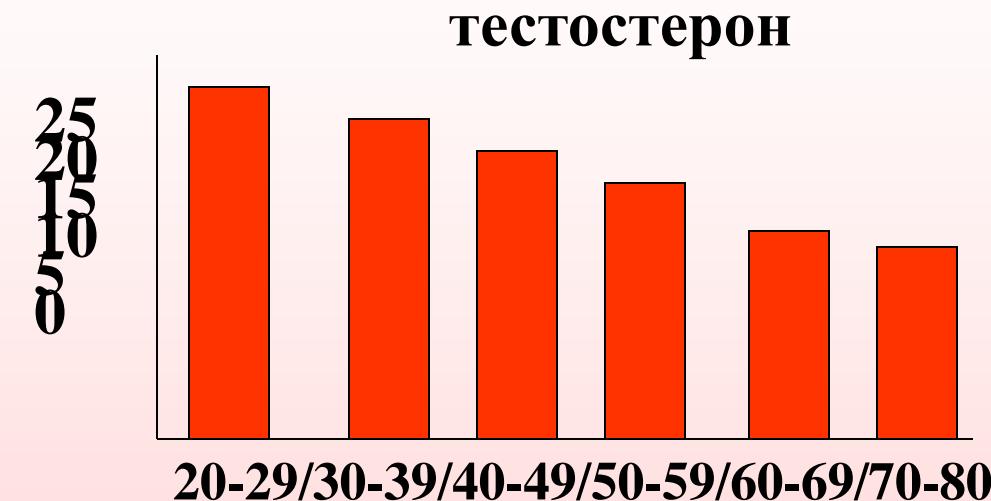


Колебания уровня тестостерона с возрастом у мужчин

С 30 лет
уровень тестостерона
снижается, а
уровень ССГ увеличивается



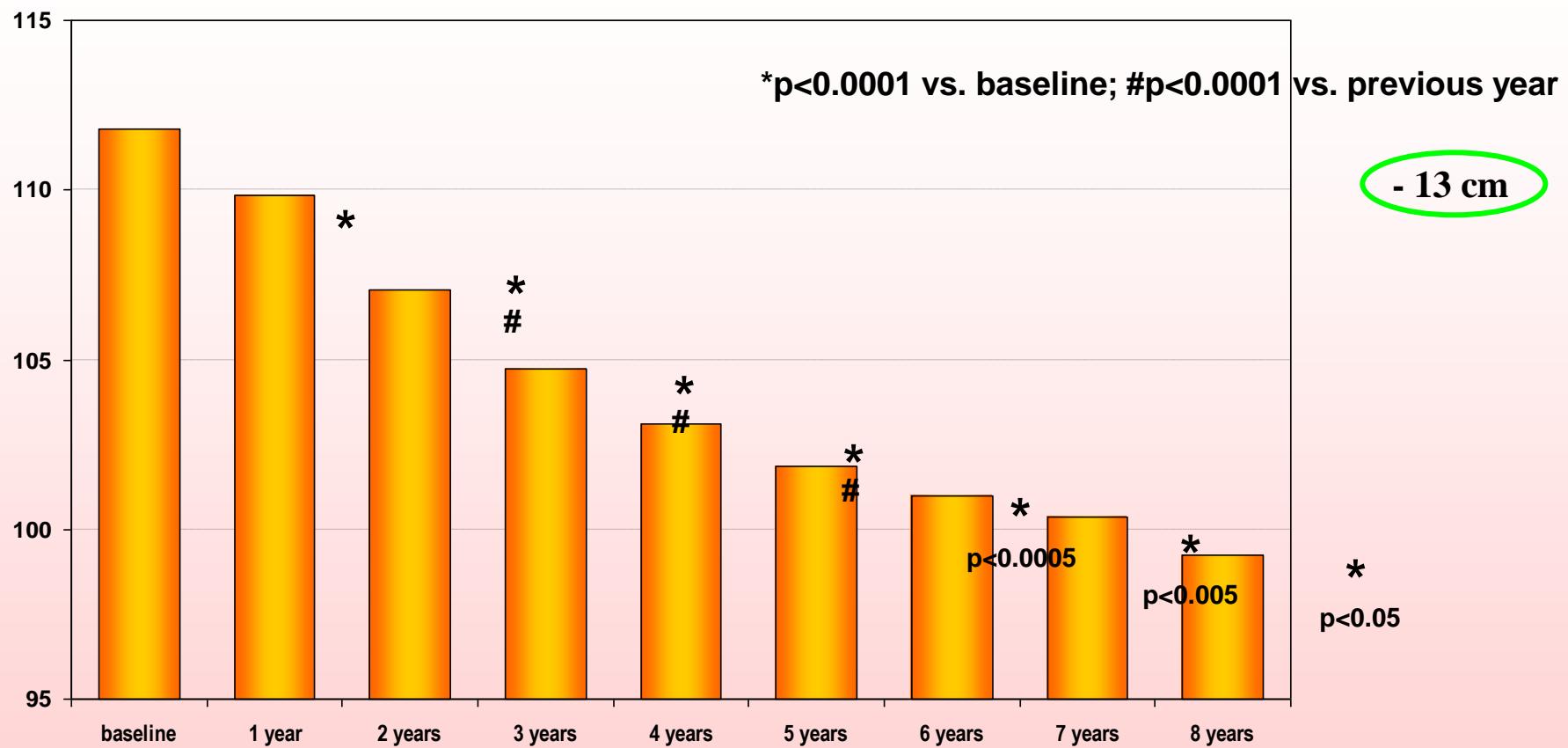
Уровень биологически
активного т.е. свободного
тестостерона ↓ на 2,3%



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

