Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

**Теория и практика лабораторных клинико-биохимических и коагулологических исследований**

Курс лекций

по специальности 31.02.03– Лабораторная диагностика

(углубленной подготовки)

В 2 частях

Часть 1.

Красноярск

2017

УДК

ББК

Теория и практика лабораторных клинико-биохимических и коагулологических исследований:курс лекций по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика (углубленной подготовки) в 2 частях. Ч.1. / сост. Г.В. Перфильева ; Фармацевтический колледж. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2017. – 45 с.

**Составитель:** Перфильева Г. В.

Курс лекций предназначен для аудиторной работы обучающихся. Составлен в соответствии с ФГОС СПО (2014 г.) по специальности 31.02.01 – Лабораторная диагностика, рабочей программой дисциплины (2015 г.) и СТО СМК ФК 8.3.02-17. Выпуск 3.

Рекомендован к изданию по решению методического совета Фармацевтического колледжа (протокол № \_\_от \_\_\_\_\_\_\_\_ г.)

© ФГБОУ ВО КрасГМУ

им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого

Минздрава России, Фармацев-тический колледж, 2016

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

[Лекция 1. Физиология гемостаза. Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз. 4](#_Toc478153634)

[Лекция 2. Каскадно-матричная теория свертывания крови 10](#_Toc478153635)

[Лекция 3. Противосвертывающая система. 13](#_Toc478153636)

[Лекция 4. Фибринолитическая система 17](#_Toc478153637)

[Лекция 6. Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза 20](#_Toc478153638)

[Лекция 6. Патология коагуляционного гемостаза 27](#_Toc478153639)

[Лекция 7. Патология тромбоцитарного гемостаза. 31](#_Toc478153640)

[Лекция 8. Тромботические заболевания. 37](#_Toc478153641)

# **Лекция 1. Физиология гемостаза. Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз.**

План лекции:

1. Общая характеристика гемостаза.
2. Компоненты системы гемостаза.
3. Механизм тромбообразования.
	1. Роль сосудистой стенки в процессе свертывания
	2. Роль тканевого фактора (ТФ) в процессе свертывания.
	3. Роль коллагена в процессе свертывания.
	4. Роль тромбоцитов в процессе свертывания.
4. Современная теория свертывания крови
5. Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз
	1. Адгезия тромбоцитов
	2. Активация тромбоцитов
	3. Агрегация тромбоцитов.

**Гемостаз** - это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохране­ние крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой стороны - остановку кровотечения при повреждении кровеносных сосудов. Органы и ткани, уча­ствующие в выполнении этих функций, образуют систему гемостаза. Элементы систе­мы гемостаза участвуют также в таких важных процессах жизнедеятельности, как вос­паление, репарация тканей, поддержание гомеостаза и др.

Изменения в системе гемостаза могут стать причиной развития как геморрагиче­ских, так и тромботических состояний, которые возникают у пациентов с самыми раз­ными заболеваниями. Огромное значение системы гемостаза в патогенезе заболеваний современного человека доказывается статистикой: такие гемостатические нарушения, как атеротромбоз и ДВС- синдром, являются причиной смерти более чем в половине всех случаев.

Лабораторная диагностика состояния системы гемостаза - важнейший фактор эффективности лече­ния многих заболеваний и снижения смертности населения.

Составляющие систему гемостаза компоненты условно можно разделить на морфологические и функциональные.

**Морфологические компоненты системы гемостаза:**

* сосудистая стенка;
* тромбоциты и клеточные элементы крови;
* плазменные компоненты - белки, пептиды и небелковые медиаторы гемостаза, цитокины, гормоны;
* костный мозг, печень, селезенка (как место синтеза и хранения тромбоцитов и плазменных компонентов системы гемостаза).

**Функциональные компоненты системы гемостаза:**

* прокоагулянты;
* ингибиторы коагуляции (антикоагулянты);
* профибрннолитики;
* ингибиторы фибринолиза.

Сохранение общей активности гемостаза в физиологических пределах можно оп­ределить как поддержание гемостатического баланса. При смещении данного баланса за рамки физиологических норм возникают условия для развития патологических кро­вотечений и тромбозов. Поскольку в организме различные мелкие повреждения возни­кают достаточно часто, в системе гемостаза практически постоянно происходят ло­кальные процессы. При нормальном гемостатическом балансе чувствительная для ор­ганизма кровопотеря происходит лишь при массивном повреждении. Однако при на­рушении гемостатического баланса даже незначительные повреждения могут вызвать значимую кровопотерю (при гемофилии). Либо наоборот, патологическое тромбообразование приводит к нарушению кровообращения в жизненно важных орга­нах. Возможно и возникновение смешанной проблемы: неконтролируемое тромбо­образование приводит к потреблению прокоагулянтов и развитию ишемии и одновре­менно к патологическим кровотечениям (ДВС-синдром).

**Механизм тромбообразования**

**Роль сосудистой стенки в процессе свертывания**.

Сосудистая стенка имеет активную поверхность, с внутренней стороны вы­стланную эндотелиальными клетками - эндотелиоцитами. Эндотелиоциты синтезиру­ют, содержат на своей поверхности и выделяют в кровь и субэндотелиальное простран­ство целый спектр биологически активных веществ, участвующих в гемостазе — антикоагулянты и прокоагулянты.

**Антикоагулянты** - гепаринсульфат, тромбомодулин, простациклин, простагландины, тканевой и урокиназный активатор плазминогена, ингибитор тканевого фактора (TFPI — TissueFactorPathwayInhibitor), протеин S.

**Прокоагулянты** - тканевой фактор, ингибитор активатора плазминогена, фактор Виллебранда, ингибитор протеина С.

Особенно следует отметить роль гепаринсульфата в обеспечении антикоагулянтного потенциала эндотелия; комплекс гепаринсульфат - антитромбин III является самым активным ингибитором свертывания крови.

Эндотелий участвует в фибринолизе за счёт синтеза и выделения в кровоток тканевого активатора плазминогена, который активирует плазминовую систему.

По мере удаления от места повреждения эндотелия снижается прокоагулянтный стимул и возрастает антикоагулянтный - в зоне неповрежденного эндотелия он ограни­чивает рост сгустка.

Способность неповрежденного эндотелия контролировать активность тромбоци­тов связана с отрицательным зарядом эндотелиальных клеток и с постоянным синтезом ингибитора агрегации тромбоцитов простациклина, АДФ-азы и оксида азота, которые препятствуют активации, адгезии и агрегации тромбоцитов.

При повреждении или воспалении сосудистая стенка принимает участие в обра­зовании тромба. Это связано с тем, что обнажаются субэндотелиальные структуры, ко­торые обладают мощным тромбогенным потенциалом, а у самого эндотелия в зоне по­вреждения при активации появляются прокоагулянтные и противовоспалительные свойства.

**Роль тканевого фактора (ТФ)** в процессе свертывания очень велика. Он обла­дает очень большой тромбогенной активностью - при связывании фактора VIIa с ТФ формируется активный комплекс, который в присутствии ионов кальция активирует фактор X. По современным представлениям этот процесс является основным физиоло­гическим путем запуска процесса свертывания.

Изначально ТФ классифицировали как один из плазменных факторов свертывания (тканевой тромбопластин - ф.III). Исследо­вания показали, что ТФ фиксирован на клеточной мембране и в физиологических усло­виях не поступает в кровоток, поэтому он был исключен из классификации плазменных факторов свертывания.

**Роль коллагена в процессе свертывания:**

При обнажении субэндотелия в просвет сосуда «вываливаются» активные структуры и, в первую очередь, коллагены. В гемостазе коллагены выполняют не­сколько важных функций:

* они образуют эластичный «каркас» сосуда и во многом определяют его проч­ность, устойчивость к нагрузкам;
* обладают высокой прокоагулянтной активностью, активируя тромбоциты. Этот механизм связан с взаимодействием коллагенов с ф. Виллебранда и с тромбоцитарными рецепторами, тем самым обеспечивая адгезию и дегрануляцию тромбоцитов;

**Роль тромбоцитов в процессе свертывания:**

Основными функциями тромбоцитов являются:

1. формирование первичной тромбоцитарной пробки в зоне повреждения сосу­да за счет адгезии и последующей агрегации;
2. активация гемостаза за счет предоставления фосфолипидной поверхности (ф. 3 - тромбоцитарный тромбопластин), необходимой для взаимодействия большинства плазменных белков гемостаза, и за счет выброса прокоагулянтов из пула хранения тромбоцитов;
3. ретракция сгустка крови ( ф.8 – тромбостенин);
4. стимуляция спазма сосуда, восстановления тканей и регулирования местного воспаления за счет выброса соответствующих медиаторов из пула хранения тромбоцитов.

**Современная теория свертывания крови**

Одной из основных особенностей системы гемостаза является необходимость наличия, наряду с факторами свертывания крови, мембранных (фосфолипидных) по­верхностей и ионов металлов (ионы кальция, цинка и магния).

Другой важной особенностью системы гемостаза является высокая быстрота от­вета и, соответственно, скорость реакции.

Кроме того, ме­ханизм положительной обратной связи способствует ускорению реакции начальных этапов свертывания. Так, активация одной молекулы предшествующего уровня в сис­теме свертывания приводит к активации от нескольких десятков до нескольких тысяч последующих молекул.

В последнее десятилетие была разработана каскадно-матричная теория свертыва­ния крови, в которой учтены не только реакции взаимодействия белков плазмы и тром­боцитов, но и влияние компонентов сосудистой стенки и других клеток крови.

**Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз**

В первый момент после повреждения сосуда развивается вазоконстрикция (спазм сосудов) - в мелких сосудах, имеющих мышечный слой. Этот спазм возникает рефлекторно под действием эндотелина - гормона из группы цитокинов, и продлевается серотонином, тромбоксаном А2 и другими вазоконстрикторами, которые появляются из эндотелиальных клеток и тромбоцитов. В первые минуты это прекращает кровотечение из ка­пилляров, мелких вен и артериол или, по крайней мере, значительно снижает кровопотерю. Спазм сосуда создает условия для более эффективного тромбоцитарного гемостаза.

Формирование первичной тромбоцитарной пробки в зоне повреждения сосудов возникает вследствие процесса, который можно условно разделить на 3 стадии:

1. Адгезия тромбоцитов к субэндотелиальным структурам.
2. Активация этих тромбоцитов с выбросом медиаторов из их пула хранения.
3. Агрегация тромбоцитов.

**Адгезия тромбоцитов.**

В процессе адгезии важную роль играют 2 механизма. Один из них - непосредственная адгезия тромбоцитов через тромбоцитарные рецепто­ры к коллагену субэндотелия. Однако этой адгезии недостаточно для удержания тром­боцитов в местах воздействия высоких скоростей кровотока - артериях и артериолах. Другой механизм, эффективно удерживающий тромбоциты при высокой скорости кро­вотока, осуществляется при помощи молекул адгезии - фактора Виллебранда, фибронектина.

Параллельно процессу адгезии происходит активация тромбоцитов.

**Активация тромбоцитов**

Активация тромбоцитов может быть обратимой (при кратковременном воз­действии слабого стимула) и необратимой (при длительной или сильной активации). К слабым стимуляторам тромбоцитов относятся малые дозы АДФ, адреналин, вазопрессин, серотонин. Сильные стимуляторы тромбоцитов - коллаген, тромбин, большие дозы АДФ.

**Агрегация тромбоцитов.**

Процессагрегациитромбоцитовзаключаетсявпри­соединенииактивированныхтромбоцитов,находящихсявтокекрови,другкдругуик ранеефиксированнымвобластиповреждениятромбоцитам.ФакторВиллебрандаигра­етроль«биологическогоклея»,прикрепляякколлагенусубэндотелияадгезированные тромбоциты.Скреплениетромбоцитоввагрегатобеспечиваетсяфибриногеном,взаи­модействующимсрецепторамиGPIIb-IIIaтромбоцитов.

Рольф.Виллебрандавадгезиииагрегациитромбоцитовнаиболеевеликавус­ловияхвоздействиявысокихскоростейкровотока.Другаяфункцияф.Виллебранда- носительствоф.VIIIплазмыиегозащитаотинактивациипротеиномС.

ПодвлияниемАДФ,тромбоксанаА2икатехоламиновтромбоцитысклеиваются междусобой,образуяагрегаты,которыеявляютсяосновойтромбоцитарной пробки (тромбоцитарного(белого)тромба)-онформируетсяужечерезнесколькоминутпосле повреждениясосудистойстенки.Усилениюагрегацииспособствуеттромбин,всегда появляющийсяврезультатесвертываниякровивместеповреждения.Агглютинацияи агрегациясопровождаетсяизменениемформытромбоцитовипоявлениемрецепторов намембранетромбоцитовкфибриногену(GPIIb-IIIa),благодарячемувприсутствии ионовСафибриногенсвязываетмеждусобойактивированныетромбоциты.Такая связьмеждуактивированнымитромбоцитаминепрочна.Именнопоэтомутакуюагре­гациюназываютобратимой.

Образованиепрочнойтромбоцитарнойпробкиследуетпослевторичной агре­гации, котораясопровождаетсясекрециейизтромбоцитовэндоперекисей,тромбоксанаА2,ионовСа,фактораактивациитромбоцитов,адренали­на,норадреналнна,фибриногена.Секрецияэтихвеществобусловленаактивациейактомиозиновойсистемытромбоцитов(контрактильныесвойстватромбоцитов),чтообу­славливаетвыделениевышеперечисленныхсубстанцийизтромбоцитовзасчётповы­шениядавлениявнутритромбоцита.Крометого,активацияактомиозиновойсистемы ведеткретракции (сокращениюиуплотнению)тромбоцнтарнойпробкисвыделением изтромбаизбытковжидкости.Внормекровотечениеизмелкихсосудовпрекращается неболеечемчерез5минут.

Помереудаленияотзоныповрежденияуменьшаетсяактивациятромбоцитов. Частичноактивированныетромбоциты,расположенныенакраевойчастисгустка,от­рываютсяотнегоивозвращаютсявкровоток.Такимобразом,периферическаядезагре­гациятромбоцитовпредотвращаетнеограниченныйростсгустка.

Впроцессеразвитияответнойреакциинаповреждениесосудистойстенкиэндо­телийитромбоцитывыбрасываютнетольковещества,обладающиегемостатической активностью,ноистимуляторырепарации,хемотаксическиевеществадляфагоцитов, иммуномодуляторы,чтообеспечиваеткомплексныйответнаповреждение.

Контрольные вопросы:

1. Дать общую характеристику гемостаза.
2. Назвать морфологические компоненты системы гемостаза.
3. Назвать функциональные компоненты системы гемостаза.
4. Механизм тромбообразования, вазоконстикция и образование первичной пробки.
5. Роль сосудистой стенки в процессе свертывания
6. Роль тканевого фактора (ТФ) в процессе свертывания.
7. Роль коллагена в процессе свертывания.
8. Роль тромбоцитов в процессе свертывания.
9. Характеристика современной теории свертывания крови
10. Этапы тромбоцитарно-сосудистого гемостаза.
11. Характеристика стадии адгезии тромбоцитов.
12. Характеристика стадии активации тромбоцитов
13. Характеристика стадии агрегации тромбоцитов.

# **Лекция 2. Каскадно-матричная теория свертывания крови**

План лекции:

1. Факторы свертывания крови.
2. Роль витамина К в гемостатических реакциях.
3. Роль кальция в гемостатических реакциях.
4. Внешний (тканевый) путь.
5. Внутренний (тканевый) путь.

Немедленно после повреждения эндотелия происходит контакт крови с субэндотелиальными структурами, и разбиваются события, которые описываются как каскадно-матричная теория свертывания крови.

После повреждения эндотелия происходит актива­ция эндотелиоцитов с последующим выбросом их содержимого под воздействием стиму­ляторов: тромбина, гистамина, фибрина, комплемента. Выброс содержимого пу­лов хранения эндотелиоцитов приводит к локальному повышению концентрации прокоагулянтов, в первую очередь ф. Виллебранда. На поверхности активированных эндотелиоцитов появляется тканевой фактор.

Таким образом, антикоагулянтые свойства эндотелия сменяются на прокоагулянтные в зоне повреждения. По мере удаления от места поврежде­ния неповрежденный эндотелий сменяет свой потенциал на антикоагулянтный.

**Факторы свертывания крови.**

Белки свертывания плазмы, входящие в каскад свертывания крови, принято на­зывать термином «фактор». В соответствии с международной номенклатурой факторы свертывания плазмы обозначаются римскими цифрами. Активные формы факторов обозначаются теми же римскими цифрами, но с добавлением аббревиатуры «а», например, Ха, Va. Факторы тромбоцитов обозначают арабскими цифрами – ф.4, ф.8.

Факторы свертывания и фибринолиза синтезируются в основном в печени и по­стоянно циркулируют в плазме крови в форме неактивных проферментов, и для их ак­тивации требуется повреждающее воздействие.

При разработке первой номенклатуры были использованы римские символы от I до XIII. Для обозначения участия в свертывания плазмы тканевого фактора и ионов кальция им был приданы символы соответственно III и IV. Однако в настоящее время римская нумерация для них не используется, так как они не относятся к плазменным факторам свертывания (тканевой фактор - это тканевой компонент вне сосудистой системы, ионы кальция не являются белком). Ф. VI в классификации не употребляется, так как этим символом ошибочно был назван ф. Va .

**Роль витамина К в гемостатических реакциях.**

Характеризуя функциональные компоненты прокоагулянтного звена гемостаза, следует остановиться на участии витамина К в активации отдельных плазменных фак­торов свертывания крови. Витамин К (хинон) относится к жирорастворимым витами­нам, поступает в организм с пищей, а также синтезируется микрофлорой кишечника.

Авитаминоз-К у взрослых развивается редко: риск возрастает при нарушена процессов поглощения липидов (нарушение тока желчи, хронический панкреатит), различных заболеваниях печени.

Факторы системы гемостаза, для полноценного функционирования которых не обходим витамин К, называются витамин К-зависимыми факторами. К ним относятся факторы II, VII, IX, X и два антикоагулянта — протеин С и протеин S - эти белки синте­зируются в печени и имеют сходную структуру молекулы.

**Роль кальция в гемостатических реакциях.**

Боль­шинство белков гемостаза имеют сайты связывания кальция. При удалении кальция из плазмы (например, при смешивании крови с цитратом натрия) активировать гемостатические реакции практически невозможно. Наиболее важные функции кальция в гемостазе:

* участие в образовании связей витамин-К-зависимых факторов (II, VII, IX, X, протеин С, протеин S) с фосфолипидной поверхностью;
* участие в активации фактора XIII
* участие в образовании связи ф. VIIa и тка­невого фактора;
* ускорение процесса роста фибринового сгустка, участие в стабилизации фибринового сгустка, ограничение протеолиза фибрина и фибриногена плазмином, защита фибрина и фибриногена от температурной и щелочной денатурации;
* стабилизация структуры многих белков гемостаза и опосредование взаимо­действия между ними;
* участие в процессах активации тромбоцитов других клеток;
* участие в формировании цитоскелета и возбуждения клетки;

По современным представлениям в остановке кровотечения участвуют 2 механизма: внутренний (клеточный) и внешний (тканевой).

И клеточный, и плазменный механизмы остановки кровотечения приводят к активизации ф. X, что в дальнейшем способствует образованию тромбина и фибрина.

**Внешний (тканевый) путь.**

Внешний механизм свертывания предполагает обязательное наличие тканевой фактора, который контактирует с кровью только при повреждении сосуда, а старт коагуляции начинается с активации ф. VII. Активированный ф. VII переводит ф. X в Ха и активирует ф. IX. Затем ф. Ха переводит неактивный протромбин ф. II в гиперактивньй тромбин. Эту реакцию значительно ускоряют ф. Va и фосфолипиды.

Параллельно с внешним путем свертывания функционирует внутренний путь.

**Внутренний путь (клеточный).**

Его начало характеризуется активацией фактора Хагемана (ф. ХIIа) и происходит на фосфолипидных мембранах тромбоцитов. Фактор Хагемана активируется коллагеном, адреналином, а затем уже активированная молекула ф. Хагемана преобразует ф. XI в ХIа. В этой реакции принимает участие калликреин, который также активируется ф. ХIа. В свою очередь, ф. ХIа активирует ф. IX.

Ф. IХа на фосфолипидных мембранах с участием ф. VIIIa и ионов Са путем протеолиза превращает ф. X в его активированную форму.

Далее ф. Ха переводит протромбин в тромбин. Эту реакцию значительно ускоряют ф. Va и фосфолипиды.

Внешний и внутренний пути взаимодействуют между собой, а их разделена достаточно условно. Оба пути сходятся на ф. X. Последний со своим кофактором ф. V образует протромбокиназу- ферментативный комплекс, который активирует протромбин с образованием тромбина. Образовавшийся тромбин поступает в ток крови и расщепляет фибриноген до фибрин-мономеров (димеры, три меры и олигомеры фибрина) Фибрин-мономер, полимеризуясь, выпадает из плазмы в виде бесцветных переплетающихся нитей фибрина, которые как сеть увлекают с собой форменные, элементы крови. Фибриновый сгусток окрашен в красный цвет за счет количественно преобладающих эритроцитов. Этот рыхлый красный тромб лабилен. Может легко растворяться фибринолизином, мочевиной. Ф. XIII (фибрин-стабилизирующий фактор), активированный тромбином, в присутствии Са превращает нестабильный, растворимый фибрин в стабильный нерастворимый фибрин.

В результате этого сгусток фибрина становится резистентным к фибринолитическим агентам и с трудом разрушается другим протеолитическими веществами. Образовавшийся сгусток фибрина уплотняется за счет тромбоцитов, в большом количестве попадающих в структуру сгустка. Наступает ретракция сгустка фибрина.

Параллельно с развитием реакций коагуляции агрегированные тромбоциты выбрасывают содержимое своих гранул. Следствием этого является местное нарастание концентрации прокоагулянтов, в первую очередь, факторов V, XIII, ф. Виллебранда, фибриногена. Тромбоцитарный фактор 4 локально ингибирует гепарин, усиливая процесс свертывания крови. Поступающие в кровь стимуляторы агрегации тромбоцитов активируют новые тромбоциты.

Контрольные вопросы

1. Общая характеристика каскадно-матричной теории свертывания крови
2. Характеристика факторов свертывания крови.
3. Роль витамина К в гемостатических реакциях.
4. Роль кальция в гемостатических реакциях.
5. Характеристика внутреннего пути свертывания.
6. Характеристика внешнего пути свертывания

# **Лекция №3. Противосвертывающая система.**

План лекции:

1. Противосвертывающая система.
2. Антикоагуляционная система.
	1. Антитромбин -AT-III
	2. Гепарин
	3. Система протеина С
	4. Ингибитор тканевого фактора
	5. Альфа 2-макроглобулин

Суммарная актив­ность противосвертывающей системы крови складывается из активности собственно антикоагулянтов и активности системы фибринолиза.

Функция фибринолнтической системы сводится к растворению уже сформировавшихся в кровяном русле сгустков фибрина.

Физиологическое действие антикоагулянтов заключается в ограниче­нии функции активных прокоагулянтов и направлено на предотвращение образования сгустков фибрина в токе крови, то есть эти два звена противосвертывающей системы крови взаимно допол­няют друг друга.

**Антикоагуляционная система**

В формировании **антикоагулянтной системы** участвуют белковые факторы плазмы, тромбоцитов и тканей.



Из других ингибиторов свертывания крови можно отметить гепарин, комплекс тромбин-антитромбин (ТАТ), С4-связываюший протеин.

Одним из основных антикоагулянтов является **антитромбинIII**(AT-III) - уни­версальный ингибитор почти всех ферментных факторов свертывания.

**AT-III ингибирует** тромбин, факторы Ха, IXa, ХIа, XIIа и калликреин. На его долю прихо­дится около 80% всей антикоагулянтной активности плазмы, он является ос­новным кофактором гепарина. Уже при снижении активности AT-III в плазме ниже 60% возрастает риск патологических тромбозов (преимущественно венозных).

Концентрация AT-III в плазме составляет 0,15-0,18 мг/мл, а время полужизни: около 3-х дней.

Уменьшение активности АТ-III отмечается в послеоперационный пери­од (закономерно), в поздние сроки беременности, при использовании некоторых гор­мональных препаратов, лечении гепарином, шоковых состояниях, диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови и массивном тромбинообразовании.

Снижение синтеза АТ-III наблюдается при лечении Е-аспарагиназой, эстрогенами и синтетиче­скими препаратами, обладающими эстрогенным действием. Гормональные препараты также способствуют задержке солей и воды, что приводит к увели­чению объема плазмы и снижению концентрации АТ-III. Снижение уровня АТ- III часто наблюдается при нефротическом синдроме и желудочно-кишечных заболеваниях, ко­гда потеря белка превышает скорость его синтеза. В этих случаях наблюдается парал­лельное снижение АТ-III и альбумина. Приобретенный дефицит АТ-III может быть обусловлен сниженным синтезом, повышенным потреблением или потерей белка. Во всех этих случаях наблюдается параллельное снижение концентрации и активности АТ-III.

Основным местом синтеза АТ-III являются клетки паренхимы печени. Поэтому заболевания, сопровождающиеся снижением белково-синтетической функции печени или транскапиллярного тока, приводят к снижению уровня АТ-III. Если параллельно со снижением АТ-III происходит повышение тромбогенных свойств стенки сосудов и ак­тивация свертывания, то процесс может принять характер автокаталитического, в кото­ром наблюдается дальнейшее снижение АТ-III, обусловленное его потреблением. Такая ситуация может наблюдаться в ходе развития ДВС-синдрома при разнообразных забо­леваниях: массивных травмах, сепсисе, воспалениях ран, змеиных укусах, раке.

**Гепарин,** вырабатываемый туч­ными клетками и оказывает потенцирующее действие на АТ-III. Антикоагулянтное действие гепарина связано с его способностью вы­зывать конфирмационные изменения АТ-Ш. Гепарин значительно усиливает активность АТ-Ш, и модулирует его ингибиторную активность. Гепарин, помимо активации АТ-Ш, обладает дополнительными антикоагулянтными эффектами:

- нейтрализует тромбоцитарный фактор 4, который высвобожда­ется из α-гранул для нейтрализации гепарина;

- стимулирует высвобо­ждение из сосудистой стенки ингибитора тканевого фактора и кофактора гепарина II.

Гепарин (нефракциоиированный и низкомолекулярный) широко используется для профилактики и ле­чения тромбозов. Антикоагулянтное действие гепарина можно быстро и обратимо снять внутривенным введением протаминсульфата.

**Система протеина С** включает непосредственно сам протеин С и его кофактор**протеин** S. Другими компонентами системы являются мембранный белок тромбомодулин, рецептор протеина С на эндотелиальных клетках и С4-связывающий протеин. Ос­новной функцией тромбомодулина является инактивация тромбина за счет создания комплекса тромбин-тромбомодулин, который активирует **протеин С.**

**Протеин С** - витамин К-зависимый белок плазмы, синтезируется в печени. Ос­новная функция его в гемостазе — инактивация факторов Va и VIIIa. Помимо этого, он ингибирует PAI (PlasminogenActivatorInhibitor - ингибитор активатора плазминогена), что приводит к усилению фибринолиза. Активированный протеин С способен инактивировать факторы Va и VIIIa, расположенные на мембране активированных тромбоци­тов или других клеток, в присутствии ионов кальция. Протеин S является кофактором этой реакции. Фактор Виллебранда защищает ф. VIII от протеолитического воздействия протеина С.

Основными ингибиторами активированного протеина С являются протеин С-ингибитор и α2-макроглобулин. Значение протеина С в системе гемостаза чрезвычайно велико.

 Пациенты с дефицитом протеина С страдают венозными и артериальными тромбозами. Пониженный уровень протеина С вплоть до низких значений наблюдается при ДВС синдроме.

Одним из видов нарушения в системе протеина С является резистентность фак­тора Va к активированному протеину С, значительно увеличивающая риск патологиче­ского тромбообразования — тромбофилии.

Система протеина С вместе с ангитромбнном III и ингибитором внешнего пути - наиболее важные эффективные компоненты, очищающие плазму от акти­вированных кофакторов плазменного гемостаза и ограничивающие процесс свер­тывания крови.

Ингибитор тканевого фактора (ингибитор внешнего пути, TFPI-TissueFactorPathwayInhibitor) ограничивает синтез тромбина комплексом тканевой фактор -ф. VII - ф. Ха, блокируя его вскоре после его образования. Помимо ингибирования, TFPI способствует поглощению и деградации этого комплекса. Таким образом, во внешнем каскаде плазменного гемостаза формируется отрицательная обратная связь.

Альфа 2-макроглобулинингибирует тромбин, калликреин, плазмин, трипсин.

Кроме физиологических антикоагулянтов, определенным ингибирующим дейст­вием на процесс свертывания крови обладают патологические антикоагулянты, в роли которых могут выступать антитела к отдельным прокоагулянтным факторам, протеинемические белки.

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика противосвертывающей системы.
2. Характеритстика антикоагуляционной системы.
3. Роль антитромбина (AT-III)
4. Роль гепарина
5. Роль системы протеина С
6. Роль ингибитора тканевого фактора
7. Роль альфа 2-макроглобулина

# **Лекция 4. Фибринолитическая система**

План лекции:

1. Характеристика фибринолитической системы
2. Компоненты фибринолитической системы крови.
	1. Плазминоген
	2. Альфа 2-антиплазмин
	3. Альфа 2-макроглобулин
	4. Альфа 1-антитрнпсин
3. Внешний путь активации плазминогена
4. Внутрений путь активации плазминогена
5. Лабораторные показатели, характеризующие фибринолнтнческую систему.

**Фибринолиз** - это процесс расщепления фибринового сгустка, в результате ко­торого происходит восстановление просвета сосуда. Фибриновый сгусток, образовав­шийся в результате свертывания крови, в дальнейшем, после исчезновения риска кро­вотечения, подвергается лизису под влиянием ферментов фибринолитической системы крови. Помимо основной физиологической задачи фибринолиза - удаление и предот­вращение образования фибриновых сгустков, компоненты фибринолитической систе­мы участвуют в таких процессах как эмбриогенез, рост и деление клеток, заживление ран, рост опухолей, их метастазирование.

Система фибринолиза, так же как и система свертывания крови, - многокомпо­нентная система, в состав которой входят активаторы, ингибиторы и конечный фермент.

**Фибринолнтическая система крови включает 4 компонента:**

1. Плазмин
2. Плазмнноген (неактивный предшественник плазмина)
3. Активаторы плазминогена
4. Ингибиторы плазминогена.

**Плазминоген**

Активность плазминогена осуществляется, в основном, 2-мя специфическими протеазами — активатором плазминогена тканевого типа и урокиназой. Кроме того, плазминоген может связываться с фибрином и активироваться в комплексе с ним. Свя­занный с фибрином плазмин относительно защищен от инактивации.

В токе крови плазмин очень быстро инактивируется ингибиторами.

Активность плазминогена повышается в последнем триместре беременности.

**Альфа 2-антиплазмин**

Недостаточность альфа2-антиплазмина проявляется кровотечениями, так как на­капливающийся активный плазмин ускоренно разрушает фибрин и фибриноген. Альфа2-антиплазмин — белок острой фазы, однако при массивной активации фибринолиза, в частности при ДВС-синдроме, может наблюдаться истощение альфа2-антиплазмина. Приобретенная недостаточность альфа2-антиплазмина встречается значительно чаще, чем врожденная.

**Альфа 2-макроглобулин**

Данный фермент является неспецифическим. При активации фибринолиза обра­зующийся из плазминогена плазмин в первую очередь связывается альфа2-антинлазмином. После полного насыщения альфа2-антиплазмина дальнейшая нейтра­лизация плазмина осуществляется за счет альфа2-макроглобулина. Кроме того, альфа2-макроглобулин инактивирует другие ферменты системы фибринолиза: урокиназу (и-РА), тканевой активатор плазминогена (t-PA), плазменный калликреин.

**Альфа 1-антитрнпсин**

На долю данного фермента приходится более 80% антипротеазной активности крови. Альфа 1-антитрипсин является основным ингибитором сериновых протеаз - трипсина, химотрипсина. Помимо этого, он принимает участие в инактивации плазми­на, калликреина, ренина. Альфа I-антитрипсин — белок острой фазы, его выработка уве­личивается при реакциях, запускаемых через фактор некроза опухолей, интерлейкин-1, интерлейкин-6, в последнем триместре беременности, при приеме эстрогенов.

Все 3 описанные ингибитора совместно предупреждают появление плазмина в системе циркуляции в свободном виде. Деятельность этих ингибиторов является важ­ным условием для поддержания гемостатического баланса.

Различают внешний и внутренний пути активации фибринолиза. Главным фер­ментом этой системы является протеолитический фермент плазмин, циркулирующий в плазме крови в виде профермента плазминогена. Плазминоген - гликопротеин, синте­зирующийся в печени, почках, эозинофилах и других клетках.

**Внешний путь активации плазминогена** обусловлен в основном тканевым акти­ватором плазминогена (t-PA- TissuePlasminogenActivator), почечной урокиназой, а также другими активаторами, выделенными из клеток крови (моноцитов, лейкоцитов).

- t-PA активирует только плазминоген, связанный с фибрином, а урокиназа мо­жет активизировать как свободный, так и связанный с фибрином плазминоген.

- t-PA синтезируется в эндотелиальных клетках и высвобождается из них при по­мощи брадикинина, который отщепляется от высокомолекулярного кининогенакалликреином.

Таким образом, процесс активации факторов контактной фазы свертывания кро­ви является основным физиологическим пусковым механизмом фибринолиза. Этот процесс резко усиливается при остановке кровотока и образовании фибрина. На фиб­рине формируется комплекс фибрин-тканевой актнватор-плазмнноген – наиболее специфическое и эффективное действующее начало фибринолиза. В результате образо­вания этого комплекса плазминоген переходит в активный плазмин, который разруша­ет пептидные связи в фибрине/фибриногене.

В результате протеолиза фибрина в крово­токе появляются продукты деградации фибрина **(ПДФ),** которые являются маркерами активации фибринолиза. Большое клиническое значение имеет определение в крови одного из ПДФ, а именно **Д-димера,** так как этот показатель является наиболее надеж­ным маркёром образования и расщепления фибрина внутри сосуда.

**Внутренний путь активации фибринолиза** индуцируется преимущественно ком­плексом ф. XIIа с калликреином, урокиназой - так называемый XIIа -зависимый фибринолиз. Так же, фибринолиз может быть активирован фак­торами противосвертывающей системы - протеином С и протеином S.

Внутренний путь активации фибринолиза начинается в комплексе реакций контактной активации свер­тывания крови. Калликреин, ф. XIIа и ф. XIа активируют проурокиназу с образованием активного фер­мента урокиназы, которая способствует переходу плазминогена в плазмин.

Активаторы плазминогена преобразуют плазминоген в плазмин, а плазмин вы­зывает протеолиз фибрина или инактивируется с образованием плазмин-антиплазминового комплекса (ПАП). Ингибиторами фибринолиза являются альфа-2-антиплазмин, альфа2-макроглобулин, альфа1-антитрипсин, ингибиторы активатора плазминогена.

Действие антиплазмина направлено исключительно на плазмин, а ингибиторы активатора плазминогена способны ингибировать активность как t-PA, так и урокиназы (PAI-2).

Нарушение соотношений компонентов фибринолитической системы ведет к па­тологической активации фибринолиза.

Определение фибринолитической активности крови имеет диагностическое и прогностическое значение при многих заболеваниях: ДВС-синдроме, циррозе печени, гепатите, лейкозе, серповидноклеточной анемии, тиреотоксическом зобе, при язве желудка.

**Показатели, характеризующие фибринолнтнческую систему:**

* Плазминоген
* Альфа2-антиплазмин
* Альфа2-макроглобулин
* Альфа1-антитриисин
* Продукты деградации фибриногена и фибрина
* Д-димер

Итак, основным результатом каскадного свертывания крови и фибринолиза яв­ляется образование стабильного сгустка в области повреждения и предупреждение кровопотери с последующим растворением сгустка и восстановлением просвета по­врежденного сосуда.

**Контрольные вопросы:**

1. Общая характеристика фибринолитической системы
2. Назвать компоненты фибринолитической системы крови.
3. Характеристика плазминогена
4. Альфа 2-антиплазмин
5. Альфа 2-макроглобулин
6. Альфа 1-антитрнпсин
7. Характеристика внешнего пути активации плазминогена
8. Характеристика внутреннего пути активации плазминогена
9. Назвать лабораторные показатели, характеризующие фибринолитическую систему.

# **Лекция 6. Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза**

План лекции:

1. Общая характеристика лабораторной диагностики гемостаза
2. Первичный скрининг нарушений гемостаза
	1. Время кровотечения
	2. Количество тромбоцитов
	3. АЧТВ тест
	4. Протромбиновый тест
	5. Тромбиновое время
	6. Содержание фибриногена
	7. РФМК тест
	8. Д-димеры
3. Уточняющее обследованиенарушений гемостаза

**Общая характеристика лабораторной диагностики гемостаза**

Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза является одной из са­мых непростых и дорогостоящих в лабораторной практике. Выполнение всех возмож­ных тестов для выявления характера нарушений системы гемостаза для всех пациентов фактически невозможно. Поэтому необходимо соблюдать алгоритм проведения тестов, исходя из клинических данных и анамнеза пациента.

После оценки клинического состояния пациента и при малейшем подозрении на тромбогеморрагические заболевания проводится лабораторная диагностика системы гемостаза, которая включает в себя два последовательных этапа - скрининговый и уточняющий.

В некоторых клинических ситуациях для предотвращения потери времени оба этих этапа объединяют (ДВС-синдром).

Лабораторный тест должен иметь:

* диагностическую значимость;
* чувствительность и специфичность;
* метод стандартизации;
* систему контроля качества.

Алгоритм диагностики нарушений гемостатических функций должен строиться стандартно - от простого к сложному, от оценочных методов к специальным, основываться на современных представлениях о механизме свертывания крови.

**Первичный скрининг нарушений гемостаза**

Диагностическая значимость скрининговых тес­тов определяется тем, что нормальные результаты их позволяют исключить наличие значительных отклонений в содержании компонентов системы гемостаза, в то время, как аномальные позволяют конкретизировать направление по­иска дефектного звена. Так же, скрининговые тесты используются также для контроля антикоагулянтной терапии.

Первый этап обследования системы гемостаза должен включать в себя ориенти­ровочные тесты коагулограммы, отражающие состояние целых звеньев системы гемо­стаза, - скрининговые тесты: время кровотечения, количество тромбоцитов, ак­тивированное частичное тромбопластиновое время **(АЧТВ),** протромбиновое вре­мя **(ПВ),** тромбиновое время **(ТВ),** концентрация фибриногена, РФМК, Д-димер.

**Скрининговые тесты при кровоточивости** выполняют при первичной постанов­ке диагноза у больного с геморрагическим синдромом, в основном для диагностики врожденных коагулопатий. Определяют количество тромбоцитов, анали­зируют мазок периферической крови, определяют время кровотечения, АЧТВ, ПВ, АТ-III, фибриноген, РФМК, Д-димер.

**Скрининговые тестыпри тромбообразовании** выполняют при венозном тромбозе любой локализации. Определяют количество тромбоцитов, АЧТВ, ПВ, фибриноген, РФМК, Д-димер, скрининговый тест на волчаночный антикоагулянт.

Обследование больных с повышенной кровоточивостью, как и больных с клини­кой тромбозов, следует начинать с анамнестических данных (сопутствующие заболева­ния, прием препаратов, приводящих к изменению свойств тромбоцитов), клинического осмотра (состояние кожи, слизистых и других органов и систем), скрининговых мето­дов лабораторной диагностики.

**Время кровотечения** - это время от момента нанесения стандартной раны кожи до момента прекращения вытекания крови. Оно характеризует функциональную актив­ность тромбоцитов и их взаимодействие с сосудистой стенкой. Этот скрининговый ме­тод позволяет заподозрить тромбоцитопатии различного генеза, болезнь Виллебранда и нарушение проагрегантных свойств сосудистой стенки. У этого метода есть серьезные недостатки:

* метод плохо стандартизируется;
* низкая чувствительность;
* низкая специфичность не позволяет однозначно интерпретировать результаты метода;
* не соответствует современным санитарно-эпидемиологическим требованиям

**Норма - 2-4 мин** от начала и до полной остановки кровотечения.

**Укорочение времени** кровотечения свидетельствует о гиперагрегации тромбоцитов.

**Удлинение времени** кровотечения до 10 мин и более говорит о патологии тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза.

Удлинение времени кровотечения часто сочетается со снижением количества тромбоцитов - тромбоцитопенией.

При нормальном числе тромбоцитов удлинение времени кровотечения является характерным признаком:

* тромбоцитопатий врожденного или приобретенного генеза, болезни Виллебранда с дефицитом ф. Виллебранда;
* терапии нестероидными противовоспалительными препаратами (аспирин), гепаринами, непрямыми оральными антикоагулянтами;
* ДВС-синдрома (II фаза гипокоагуляции);
* синдрома массивных гемотрансфузий, на фоне инфузионной терапии.

**Количество тромбоцитовв крови в норме составляет 180-320 тыс/мкл.**

 **Уменьшение числа тромбоцитов** ниже 150 тыс/мкл носит название тромбоцитопении, диффе­ренциальная диагностика должна быть направлена на исключение у больного:

* побочного действие лекарственных препаратов (антиагреганты, антикоагулянты, инфузионно-трансфузионная терапия, химиотерапия, лучевая терапия, гемодиализ );
* определение способность тромбоцитов к адгезии и агрегации с различными сти­муляторами (АДФ, коллаген, ристомицин, адреналин);
* определить активность фактора Виллебранда и плазменных факторов;
* исключить повышенное разрушение тромбоцитов при гиперспленизме;
* исключить потери тромбоцитов в случаях значительной кровопотери;
* исключить острую вирусную инфекцию.

 **Повышенное количество тромбоцитов** в крови (более 350 тыс/мкл) носит название тромбоцитоз - первичный (тромбоцитемия и другие миелопролиферативные заболевания) или вторичный (реактивный) тром­боцитоз. Первым этапом диагностики (анамнестическими, клиническими и лабораторны­ми данными) необходимо исключить наиболее частые причины тромбоцитоза: инфек­ционные, воспалительные, тромботические и гематологические (в основном дефицит железа) причины.

При подозрении на тромбоцитопатию необходимо определить способность тромбоцитов к адгезии и агрегации с различными стимуляторами (АДФ, коллаген, ристомицин, адреналин), оп­ределение активности фактора Виллебранда, активности плазменных факторов (факто­ра VIII) и, возможно, другие методы исследования.

**АЧТВ тест** является одним из самых информативных скрининговых тестов, ис­пользуется для оценки внутреннего звена свертывания плазмы крови. Тест чувствителен к дефициту всех факторов свертывания (кроме ф. VII), к гепарину (диагностика антикоагулянтного действия гепаринов), к специфиче­ским ингибиторам (антитела к факторам VIII и IX) и к неспецифическим ингибиторам (волчаночный антикоагулянт).

**Норма АЧТВ – 27 – 35 с.**

**Укорочение АЧТВ** свидетельствует об активации внутреннего звена гемо­стаза (гиперкоагуляции), наблюдается при гиперкоагуляционном синдроме, ДВС-синдроме (фаза гиперкоагуляции).

**Удлинение АЧТВ** свидетельствует о:

* дефиците ф. VIII (гемофилия А), ф. IX (гемофилия В), ф. XI, ф. XII - при нор­мальных результатах ПВ;
* дефиците ф. II, ф. V и ф. X при одновременном удлинении АЧТВ и ПВ;
* ДВС-синдроме (фаза гипокоагуляции);
* дефиците ф. Виллебранда, при клинике кровоточивости необходимо дополни­тельное исследование способности тромбоцитов к адгезии и агрегации с различными стимуляторами (АДФ, коллаген, ристомицин, адреналин), определение активности ф. Виллебранда, ф. VIII;
* наличие волчаночного антикоагулянта (ВА) при клинике тромбозов или по­дозрении на тромбофилию;
* гепаринотерапии, обычно наблюдается выраженное удлинение АЧТВ;
* прием оральных непрямых антикоагулянтов. Обычно наблюдается умеренное удлинение АЧТВ с выраженным удлинением ПВ.

**Протромбиновое время (ПВ)** - этот тест является одним из основных базовых тестов, используемых в повседневной клинической практике. Тест ПВ используют для выявления нарушений активности факторов внешнего пути свертывания - определяет активность факторов протромбинового комплекса: ф.II, ф. VII ф. X, ф. V; для оценки функции печени, а также для контроля за лечением антикоагулянтами непрямого действия. **Норма ПВ – 12-20 с.**

**Укорочение ПВ** свидетельствует об активации внешнего звена гемостаза (гиперкоагуляции) при гиперкоагуляционном синдроме, ДВС-синдроме.

**Удлинение ПВ** свидетельствует о возможном дефиците факторов внешнего зве­на гемостаза:

* дефиците или аномалии факторов протромбинового комплекса (VII, II, X) в слу­чаях приема оральных непрямых антикоагулянтов, дефиците ф. V;
* гепаринотерапии;
* заболеваниях печени, желчного пузыря;
* ДВС-синдроме (фаза гипокоагуляции).

**Тромбиновое время (ТВ)** - характеризует конечный этап процесса свертывания: превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина. На него влияет концен­трация фибриногена в плазме и наличие продуктов деградации фибрина.

**Норма ТВ - 14 - 18 с.**

**Укорочение ТВ** свидетельствует о возможной активации системы гемостаза гиперкоагуляции:

 - гиперкоагуляционном синдроме, ДВС-синдроме (гиперкоагуляционная фаза), гиперфибриногенемии.

**Удлинение ТВ**свидетельствует о:

* гепаринотерапии. Обычно наблюдаются умеренное удлинение ПВ с одновременным выраженным удлинением АЧТВ;
* активации фибриполитической системы крови при ДВС-синдроме, тромболитической терапии, заболеваниях печени, поджелудочной. В этом случае обычно наблюдается повышение ПДФ и Д-димера в крови;
* гипофибриногенемии - если уровень фибриногена в крови ниже 1,0 г/л.
* наличием ингиби­торов тромбина и фибриногена.

**Фибриноген** - количественный анализ фибриногена по методу Клаусса - являет­ся базовым тестом исследования гемостаза.

**Норма фибриногена в плазме крови составляет 2.0-4,0 г/л.**

Проводится при гиперфибриногенемиях, связанных с тя­жестью воспалительных, иммунных, деструктивных процессов, с риском развития ар­териальных тромбозов и инфарктов органов.

**Снижение концентрации фибриногена** на­блюдается при остром ДВС-синдроме, при лечении фибринолитиками, при врожден­ных гипо- и дисфибриногенемиях.

**Повышение уровня фибриногена** свидетельствует о возможном развитии инфек­ционных, воспалительных или аутоиммунных процессов.

**Снижение уровня фибриногена** в крови характерно для гипофибриногенемии при развитии острого ДВС-синдрома.

**РФМК** - растворимые фибрин-мономерные комплексы, которые образуются в процессе деградации молекул фибриногена/фибрина под действием тромбина и плазмина.

**Норма РФМК - менее 4 мг/100мл.**

РФМК- это один из ранних маркеров тромбинемии - активации внутрисосудистого свертывания крови.

**Повышение РФМК** характерно при развитии гиперкоагуляционного синдрома, ДВС-синдрома, аутоиммунных заболеваний.

**Д-димеры** - специфические продукты деградации фибрина. Они образуются в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых неспецифических фибринолитиков.

С помощью анализа Д-димера в крови можно оценить, как происходит процесс образования и распада фибрина - тромбообразование и фибринолиз. Исследование это­го показателя применяется при диагностике тромботических состояний, тромбозе глу­боких вен, легочной эмболии, ДВС-синдроме и при осложнениях беременности.

**Повышенный Д-димер** характерен для массивных поражений тканей, обширных гематом, хирургических вмешательств, беременности (к концу срока уровень Д-димера в 3-4 раза превышает норму), у лиц старше 80 лет.

 Д-димер может быть признаком серьезных заболеваний:

* тромбоз глубоких вен
* ДВС-синдром
* легочная тромбоэмболия
* инфекционные заболевания, сепсис
* онкологические заболевания
* болезни печени
* ишемическая болезнь сердца (в том числе и инфаркт миокарда), сердечная не­достаточность.

**Норма Д-димера: <248 нг/мл**

Д-димеры долго циркулируют в крови, время их полувыведения со­ставляет более 24 ч, повышение D-димеров может наблюдаться в течение нескольких недель после острого тромбоза. На содержание D-димеров влияют такие факторы, как величина тромба, время от начала клинических проявлений до назначения антикоагулянтной терапии, прием антикоагулянтов, на фоне которых уровень D-димеров посто­янно снижается. Поэтому более важной для исключения диагноза тромбоза является отрицательная диагностическая значимость теста.

**Уточняющее обследование**

В зависимости от результатов скрининговых тестов или клинических показаний может оказаться необходимым исследование отдельных компонентов.

Применяемые методы могут быть разделены на функциональные, основанные на определении специфической активности компонента, и иммунологические, в которых измеряется концентрация антигена.

Уточняющее обследование включает в себя диагностические тесты:

* агрегация тромбоцитов с различными индукторами (АДФ, коллаген, ристомицин), активность ф. Виллебранда, исследование вязкости крови;
* факторы свертывания ф. VIII (диагностика гемофилии А и тромбофилий), ф. IX (диагностика гемофилии В и тромбофилий), ф.ХIII, резистентность фактора Va к действию протеина С (диагностика ф. V Лейден);
* ХIIа-зависимый фибринолиз (определение фибринолитической активности плазмы), плазминоген;
* физиологические антикоагулянты - антитромбин III, протеин С, протеин S;
* определение анти-Ха активности гепарина;
* определение волчаночного антикоагулянта (антифосфолипидный синдром);

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика лабораторной диагностики гемостаза
2. Первичный скрининг нарушений гемостаза
3. Характеристика времени кровотечения
4. Характеристика Количество тромбоцитов
5. Характеристика АЧТВ теста
6. Характеристика протромбинового теста
7. Характеристика тромбинового времени
8. Характеристика содержания фибриногена
9. Характеристика РФМК теста
10. Характеристика Д-димеров
11. Тесты, входящие в уточняющее обследованиенарушений гемостаза

# **Лекция 6. Патология коагуляционного гемостаза**

План лекции:

1. Классификация патологии системы гемостаза

2. Геморрагические заболевания.

1. Наследственные коагуопатии,
2. Приобретенные коагулопатий
3. Диагностика нарушений плазменного гемостаза

**Современная классификация патологии системы гемостаза**

(на основе классификации В.В.Долгова, П.В.Свирина. 2005)

1. **Геморрагические заболевания - наследственные и приобретенные**

A) Наследственные геморрагические коагулопатии - гемофилия А, гемофилия В, редкие формы наследственных коагулопатии.

Б) Приобретенные геморрагические коагулопатии.

B) Врожденные нарушения функции тромбоцитов - болезнь Виллебранда, синдром Бернара-Сулье, тромбастения Гланцманна.

Г) Приобретенные нарушения тромбоцитарного звена.

1. **Тромботические заболевания**

А) Наследственные факторы риска тромботических заболеваний.

Б) Приобретенные факторы патологического тромбообразования.

**III Вторичные комплексные нарушения гемостаза**

А) ДВС-синдром.

Б) ЛВС (локализованное внутрисосудистое свертывание крови, локальный тромбоз).

**I. Геморрагические заболевания.**

**Наследственные коагуопатии**, связаны с генетически детерминиро­ванным дефицитом активности факторов свертывания крови. Имеется изолированный дефект одного из факторов, или возможны комбинированные дефекты.

Гемофилия А или В, а также болезнь Виллебранда составляют 80-85% случаев наследственных нарушений свертывающей системы крови, дефициты других факторов системы гемостаза - I, II, V, VII, X, XI, XII, XIII - 15% случаев.

**Гемофилия - э**то наследственный геморрагический диатез, обусловленный дефицитом факто­ров свертывания крови; передается по рецессивному типу, сцеплен с Х-хромосомой.

Гемофилия А обусловлена дефицитом ф. VIII свертывания крови, гемофилия В - дефи­цитом ф. IX. Частота гемофилии А составляет 1 случай на 10 000 новорожденных мальчиков, а гемофилии В - 1 случай на 30 000 новорожденных мальчиков.

Лабораторная диагностика гемофилии А и В включает в себя определение ак­тивности факторов VIII и IX.

**Редкие формы коагулопатий**

Это дефициты факторов системы гемостаза: фибриногена, протромбина, факто­ров V, VII, X, XI, XII, XIII.

Дефициты фибриногена и протромбина могут быть как врожденными, так и приобретенными:

- дефицит фибриногена (гипо-, дис-, афибриногеномия)

- при заболеваниях печени, при ДВС-синдроме, дефицит протромбина (гипо-диспротромбинемия)

 - при недостатке витамина К.

Лабораторная диагностика основана на проведении стандартных скрининговых тестов коагулограммы и на определении активности дефицитных факторов.

**Б. Приобретенные коагулопатий**

Приобретенные коагулопатий возникают:

* при развитии кровотечений, связанных с массивной кровопотерей;
* при появлении специфического ингибитора к факторам VIII, IX у пациентов, страдающих гемофилией А и В и получающих специфическую заместительную тера­пию (приобретенная гемофилия);
* при появлении ингибитора к факторам V, VII, X, XIII. протромбину, фибриноге­ну, фибрину, ПДФ за исключением антител к протромбину и антител, ассоцииро­ванных с волчаночным антикоагулянтом, специфические антитела встречаются очень редко;
* при появлении ингибитора к ф. Виллебранда (болезнь Виллебранда);
* при приобретенном дефиците витамина К (вследствие синдрома нарушенного кишечного всасывания, недоедания, алкоголизма, приема некоторых лекарственных препаратов - кумаринов, антиконвульсантов, антибиотиков, отравления яда­ми. Коагулопатия, возникающая вследствие приобретенного дефицита витамина К, проявляется кожным геморрагическим синдромом различной степени выраженности, кровотечениями со слизистых;
* при геморрагических мезенхимальных дисплазиях - группы заболеваний соеди­нительной ткани, в основе которых лежит недостаточное или аномальное развитие коллагеновых структур, приводящее к неполноценности сосудистой стенки, связочного аппарата, клапанов сердца, кожи, скелета, часто сочетающихся с неполноценностью иммунитета и гемостаза;
* при развитии геморрагического синдрома при амилоидозе - встречается у 10% пациентов с системным амилоидозом;
* при развитии нарушений гемостаза, связанных с патологией почек. Примерно у 50% больных с ХПН имеются проявления геморрагического синдрома. Тяжелые крово­течения у данной группы пациентов связаны с травмой или оперативным вмешательст­вом. Процедура гемодиализа, часто используемая при лечении пациентов с ХПН, со­провождается применением гепарина, остаточное количество которого также может вносить свой вклад в геморрагические проявления;
* при системном фибринолизе - значительная активация системного фибринолиза — это довольно редкая причина геморрагического синдрома, однако развитие системно­го фибринолиза может повлечь за собой опасные геморрагические проявления, а при истощении плазминогена - тромбозы. Развивается гиперфибринолиз при множествен­ных травмах, сепсисе, ДВС-синдроме, обширном метастазировании с деструкцией тка­ней. Для коррекции гиперфибринолиза используют ингибиторы фибринолиза и протсолиза;
* при геморрагическом синдроме при заболеваниях печени. Кровотечения часто сопутствуют хроническим или острым заболеваниям печени. Наиболее опасны крово­течения из пищеварительного тракта, которые нередко становятся причиной гибели этих пациентов.

 При заболеваниях печени механизмы нарушения системы гемостаза включают:

* снижение прокоагулянтной активности плазмы вследствие снижения синтеза в печени белков системы гемостаза, дефицита витамина К;
* тромбоцитопения и нарушение функции тромбоцитов вследствие гиперспленизма, недостаточного выведения ингибиторов функции тромбоцитов;
* ДВС-синдром, вследствие выброса прокоагулянтов из клеток печени, эндотоксикоза, недостаточно активной элиминации активированных факторов свертывания, снижении концентрации антитромбина-Ш и протеина С, повышения активности цитокинов;
* системный фибринолиз - снижение активности альфа2-антиплазмина, недоста­точно активная элиминация ферментов фибринолиза, снижении элиминации тканевого активатора плазминогена. Системный фибринолиз у пациентов с печеночной недоста­точностью может быть причиной массивных кровотечений из желудочно-кишечного тракта.

**Диагностика нарушений плазменного гемостаза**

При выявлении гипокоагуляции (удлинение АЧТВ, ПВ, ТВ), гипофибриногенемии, при клинике кровоточивости, скрининговые тесты должны быть дополнены ис­следованием:

* агрегации тромбоцитов с различными индукторами (АДФ, коллаген, ристомицин);
* определением активности фактора Виллебранда;
* определением активности отдельных факторов и ингибиторов к ним;
* наличия волчаночного антикоагулянта (ВА). Для данной патологии характерна клиника тромбозов при удлинении АЧТВ;
* активности фактора XIII;
* определения фибринолитической активности плазмы (XIIа-зависимый фибринолиз, активность плазминогена, активаторов и ингибиторов фибринолиза, РФМК, ПДФ, Д-димера, ТАТ).

При наличии признаков гиперкоагуляции (повышенный уровень маркеров активации) и тромбообразования - сокращение АЧТВ, ПВ, ТВ, повышение РФМК, Д-димера, гиперфибриногенемии, а также при клинике тромбозов, целесообразно прове­дение следующих тестов:

* компонентов системы свертывания - ф. VII и его активированная форма, ф. VIII, определение резистентности активированного ф. V к действию активированного про­теина С (диагностика мутантного ф. V);
* наличия ВА (при данной патологии наблюдается удлинение АЧТВ);
* компонентов системы противосвертывания (активность АТ-Ш, протеина С, про­теина S);
* ХIIа-зависимый фибринолиз, активность плазминогена, активаторов фибрино­лиза, , Д-димер, ТАТ;
* агрегации тромбоцитов с различными индукторами (АДФ, коллаген, ристомоцин);
* уровень гомоцистеина в крови, вязкость крови.

Контрольные вопросы:

1. Классификация патологии системы гемостаза

2. Геморрагические заболевания.

3. Характеристика наследственных коагуопатий

4. Гемофилии

1. Характеристика приобретенных коагулопатий: причины, клиника
2. Диагностика нарушений плазменного гемостаза при выявлении гипокоагуляции
3. Диагностика нарушений плазменного гемостаза при выявлении гиперкоагуляции

# **Лекция 7. Патология тромбоцитарного гемостаза.**

План лекции:

1. Врожденные нарушения функции тромбоцитов
	1. тромбастении Гланцманна
	2. бо­лезнь Виллебранда
	3. синдром Бернара-Сулье
2. Тромбоцитопении
	1. Иммунные тромбоцитопении
	2. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП)
	3. Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ)
3. Лабораторные методы, применяемые для дифференциальной диагностики тромбоцитопении
4. Приобретенные формы тромбоцитопатий
5. Тромбоцитоз.

**В) Врожденные нарушения функции тромбоцитов**

Согласно классификации существуют 5 типов врожденных наруше­ний функций тромбоцитов:

* Дефекты взаимодействия тромбоцит - сосудистая стенка (дефект адгезии) - бо­лезнь Виллебранда, псевдоболезнь Виллебранда, синдром Бернара-Сулье (дефект GPIb).
* Дефекты межтромбоцитарного взаимодействия (дефекты агрегации) - врожден­ная афибриногенемия, тромбастения Гланцманна (дефект GPIIb-IIIa).
* Нарушения функции секреции и передачи сигнала — аномалии гранул (квебек­ская аномалия тромбоцитов, дефицит плотных гранул, дефицит альфа-гранул - син­дром серых тромбоцитов, смешанный дефицит альфа- и плотных гранул), аномалии обмена арахидоновой кислоты и синтеза тромбоксанаА2.
* Дефекты регуляции цитоскелета - синдром Вискотта-Олдрича.
* Нарушения взаимодействия тромбоцитов с белками гемостаза - синдром Скотта.

Клинические проявления врожденных нарушений функции тромбоцитов для большинства заболеваний сходны. Отмечается кровоточивость по микроциркуляторному типу (чаще - петехиального типа). В большинстве случаев геморрагический син­дром выражен не сильно и редко угрожает жизни, за исключением тромбастении Гланцманна и синдрома Бернара-Сулье.

**При тромбастенииГланцмана**в мембранах кровяных пластинок отсутствуют специфические рецепторы гликопротеинов IIb и IIIа, необходимые для взаимодействия этих клеток со стимуляторами агрегации и фибриногеном. При этом резко нарушен процесс агрегации тромбоцитов под действием АДФ, адреналина и коллагена.

**Болезнь (синдром) Виллебранда**обусловлена дефицитом плазменного белко­вого комплекса — фактора Виллебранда и фактора VIII, без которого нарушаются адге­зивные свойства тромбоцитов. Частота носителей дефектного гена фактора Виллебран­да в популяции достигает 1:100 человек, но лишь 10-30% из них имеют клинические проявления.

Основные клинические проявления заболевания: рецидивирующие носовые, десневые кровотече­ния, кровотечения после удаления зубов, оперативных вмешательств, гематомы и гемар­трозы крупных суставов.

В соответствии с общепринятой классификацией болезнь Виллеб­ранда подразделяется на 3 типа, а тип 2 на 4 подтипа (А, В, М, N):

1. й тип — наследственное заболевание с частичным количественным дефицитом фактора Виллебранда в крови и нормальным распределением мультимеров фактора Виллебранда. Частота встречаемости этого типа - 1-30:1000, это наиболее распростра­ненный вариант болезни Виллебранда - более 70% всех случаев;
2. й тип - наследственная патология с качественным изменением фактора Вил­лебранда с различными вариантами состава и распределения мультимеров фактора Виллебранда - подтипы А, В, М, N;
3. й тип - практическое отсутствие фактора Виллебранда в крови.

 Лабораторная диагностика болезни Виллебранда основана на исследовании коагулограммы, выявления снижения активности ф. Виллебранда и ф. VIII, исследования агрегации тромбоцитов с индукторами АДФ, коллагеном, адреналином, ристомицином. Выявляется нарушение (снижение) агрегации с ристомицином, тогда как агрегация при стимуляции АДФ, адреналином и коллагеном протекает нормально. Интересно, что 80% лиц с диагностированной болез­нью Виллебранда имеют 1(0) группу крови.

Сходные изменения наблюдаются при болезни **(синдроме) Бернара-Сулье,**обусловленной отсутствием в мембранах мегакариоцитов и тромбоцитов специфиче­ского рецептора (гликопротсинаlb), ответственного за начальную адгезию кровяных пластинок и их взаимодействие с фактором Виллебранда.

Главное отличие этих двух состояний: гигантский размер тромбоцитов при бо­лезни Бернара-Сулье, отсутствие в цитоплазматической мембране мегакариоцитов и тромбоцитов гликопротеина lb и нарушенные агрегации тромбоцитов под влиянием бычьего фибриногена. При болезни Виллебранда бычий фибриноген вызывает нор­мальную агрегацию, размеры тромбоцитов остаются нормальными. В соответствии с природой дефектов при тромбоцитодистрофии Бернара-Сулье тромбоциты нормально реагируют на все стимуляторы, кроме ристоцетина, в то время как при тромбастенииГланцмана сохранены адгезия и агрегация тромбоцитов с ристоцетином, но нет ответа на стимуляторы, требующие связывания фибриногена (АДФ, тромбин, адреналин).

Существенное значение имеет нарушение ангиотрофической функции тромбоцитов, что ведет к дистрофии стенок микрососудов, повышению их проницаемости для эритроци­тов и к повышению ломкости сосудов.

**Тромбоцитопения** может быть следствием пониженного образования тромбоци­тов, повышенной деструкции или повышенного их потребления.

К угнетению тромбоцитопоэза могут приводить:

* ионизирующая радиация,
* миелотоксические вещества,
* ан­тибиотики (левомицетин, стрептомицин),
* цитостатические препараты,
* вирусы.
* Наибо­лее частой причиной тромбоцитопении является иммунная деструкция тромбоцитов, обусловленная присутствием в крови аутоантител (IgG) к тромбоцитам (болезнь Верль-гофа).
* Иммунный механизм лежит в основе тромбоцитопении при применении лекарственных препаратов, вирусных и инфекционных заболеваний, после прове­денных гемотрансфузий.
* Тромбоцитопения может развиться при протезировании кла­панов сердца, экстракорпоральном кровообращении,
* алкоголизме (токсический эф­фект),
* дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты и гиперспленизме (за счет повы­шенной секвестрации и угнетения активности мегакариоцитов).

Тромбоцитопении могут быть обусловлены:

* недостаточным образованием тромбоцитов (уменьшение числа или отсутствие мегакариоцитов в костном мозге, неэффективный тромбоцитопоэз) - при лейкозах, апластических анемиях, алкогольной тромбоцитопении, тромбоцитопении при мсгалобластной анемии, некоторых миелодиспластических синдромах.
* повышенным их разрушением - при ДВС-синдроме, выраженном ангиоматозе, гигантской кавернозной гемангиоме.
* повышенным их потреблением - при гиперспленизме различной этиологии, остеомиелофиброзе, болезни Гоше, идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, тромбоцитопенией, связанной с ВИЧ, лекарственной тромбоцитопенией, СКВ, лимфоме.

Тяжелая тромбоцитопения проявляется множественными петехиями на коже, кровотечениями из слизистых оболочек.

 **Иммунные тромбоцитопении**

Иммунные тромбоцитопении в зависимости от механизма развития подразделя­ются на несколько типов:

* аутоиммунная тромбоцитопения (идиопатическая тромбоцитопеническая пур­пура), при которой антитела (чаще IgG класса) вырабатываются к антигенам собствен­ных тромбоцитов;
* аллоиммунные тромбоцитопении, при которых антитела вырабатываются к ан­тигенам чужеродных тромбоцитов (посттрансфузионные тромбоцитопении, при кото­рых вырабатываются антитела к антигенам донорских тромбоцитов и другие);
* гаптеновые тромбоцитопении, при которых антитела образуются против ком­плекса лекарства с тромбоцитарным антигеном.

**Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП)**

ИТП наиболее распространена среди иммунных тромбоцитопении. Частота ИТП около 1:10000. Для ИТП характерно отсутствие видимой причины для ее возникнове­ния.

Диагноз подтверждается отсутствием анамнестических данных о данном заболе­вании у родственников пациента; подтверждается сложными методами исследования функции тромбоцитов (электронная микроскопия).

**Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ)**

Тромбоцитопения развивается примерно у 3-5% больных, получавших бычий гепарин, и у 1% больных, получавших свиной гепарин. У больных с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией прогрессивно увеличивается риск тромбоза, воз­никают угрожающие жизни артериальные тромбы (рикошетные тромбозы). Патогенез ГИТ связан с действием гепарин-зависимых IgG-антител.

Низкомолекулярные гепарины (фраксипарин, клексан, фрагмин) практически не вызывают ГИТ: в среднем, ГИТ происходит в 8-10 раз реже, если применяются низкомолекулярные гепарины, по сравнению с использо­ванием нефракционированного гепарина.

**Дифференциальная диагностика тромбоцитопении должна быть направлена на выяснение варианта тромбоцитопении:**

* иммунные тромбоцитопении;
* тромбоцитопении, возникающие в результате угнетения тромбоцитопоэза в ко­стном мозге;
* наследственные тромбоцитопении - тромбоцитопатии.

**Лабораторные методы, применяемые для дифференциальной диагностики тромбоцитопении:**

* анализ тромбоцитов в периферической крови (количество, морфология) - при помощи микроскопии, автоматических счетчиков;
* анализ мегакариоцитов костного мозга (количество, морфология) - при помощи микроскопии;
* анализ антитромбоцитарных антител, определение продолжительности жизни тромбоцитов — при помощи РИА, ИФА, проточной цитометрии, радиоизотопных методов.

**При лабораторной диагностике** следует обращать внимание на коли­чество, и на размеры тромбоцитов: повышение доли крупных тромбоцитов позволя­ет предположить о компенсированном увеличении образования тромбоцитов. Исследо­вание пунктата костного мозга позволяет оценить число и внешний вид мегакариоци­тов и подтвердить наличие заболевания, нарушающего функцию костного мозга (лей­козы, апластическая анемия).

Для **приобретенных форм тромбоцитопатий,** протекающих с измененными ад­гезивными и агрегационными свойствами тромбоцитов, характерна связь с приемом различных групп препаратов (нестероидные противовоспалительные препараты, антибактериальные препараты, антидепрессанты, адреноблокаторы, антигистаминные, этанол, гепарины, ви­тамин Е), с гематологическими заболеваниями (парапротеинемия, тромбоцитемия, миелофиброз, хронический миелолейкоз, истинная полицитемия, острые миелоидные лейкозы, серповидноклеточная анемия, талассемия), с заболеваниями пе­чени, уремией, ДВС-синдромом.

**Тромбоцитоз** - состояние, характеризующееся повышением количества тромбо­цитов выше 350 тыс/мкл.

- Первичный тромбоцитоз (эссенциальная тромбоцитемия, эритремия, сублейкемический миелоз);

- Вторичный (реактивный) тромбоцитоз. Вторичный тромбоцитоз является проявлением различных гематологических и негематологических заболеваний, может быть обусловлен тяжелым кровотечением, дефицитом железа, хи­рургическим вмешательством, спленэктомией (через 1-3 недели после операции), зло­качественными новообразованиями, хроническими воспалительными заболеваниями, острыми инфекциями, ДВС-синдромом, медикаментами (винкристин, адреналин и др.).

- Рикошетный тромбоцитоз может возникнуть при восстановлении функций костного мозга после приема цитостатических средств, алкоголя.

Анамнестические, клинические и лабораторные данные позволяют исключить наиболее частые причины тромбоцитоза: инфекционные, воспалительные и гематоло­гические (в основном дефицит железа).

Контрольные вопросы:

1. Врожденные нарушения функции тромбоцитов
2. Тромбастении Гланцманна
3. Бо­лезнь Виллебранда
4. Синдром Бернара-Сулье
5. Тромбоцитопении
6. Иммунные тромбоцитопении.
7. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП)
8. Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ)
9. Лабораторные методы, применяемые для дифференциальной диагностики тромбоцитопении
10. Приобретенные формы тромбоцитопатий
11. Тромбоцитоз.

# **Лекция 8. Тромботические заболевания.**

# **Литература**

 Основная литература

1. Кишкун А. А. [Клиническая лабораторная диагностика](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=52966) [Электронный ресурс] : учеб. пособие для мед. сестер. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - Режим доступа: [http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.htm](http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.htm.-).
2. [Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=61016) : рук. для врачей.-ред. А. И. Карпищенко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.

Дополнительная литература

1. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики [Электронный ресурс]. -М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - Режим доступа: <http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970426593.htm>.
2. [Теория и практика лабораторных клинико-биохимических и коагулологических исследований](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=63814) [Электронный ресурс] : сб. ситуац. задач с эталонами ответов для студентов 3-4 курсов, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика. - сост. Г. В. Перфильева; - Красноярск : КрасГМУ, 2016.- Режим доступа: http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&cat=&res\_id=63814.
3. [Теория и практика лабораторных клинико-биохимических и коагулологических исследований](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=63815) [Электронный ресурс] : сб. тестовых заданий с эталонами ответов для студентов 3-4 курсов, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика. - сост. Г. В. Перфильева; - Красноярск : КрасГМУ, 2016. - Режим доступа: http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&cat=&res\_id=63815
4. [Теория и практика лабораторных клинико-биохимических и коагулологических исследований](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=63816) [Электронный ресурс] : сб. метод. указаний для студентов к практ. занятиям по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика. Ч. 1. - сост. Г. В. ПерфильеваКрасноярск :КрасГМУ, 2016. - Режим доступа: http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&cat=&res\_id=63816

**Электронные ресурсы:**

ЭБС КрасГМУ «Colibris»;

ЭБС Консультант студента ВУЗ

ЭБС Консультант студента Колледж

ЭМБ Консультант врача

ЭБС Айбукс

ЭБС Букап

ЭБС Лань

ЭБС Юрайт

СПС КонсультантПлюс

НЭБ eLibrary