

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА, ОСНОВАННОГО НА ДАННЫХ ТРОМБОЭЛАСТОМЕТРИИ

Д.Г. РАЦКЕВИЧ¹, С.К. ДИК¹, Н.А. ШУГАЛЕЙ²

¹Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Республика Беларусь

²ООО «Вест-Эко-Мед-С», Республика Беларусь

Поступила в редакцию 19 января 2018

Аннотация. Тромбоэластометрия – это метод оценки системы гемостаза на основе непрерывного графического протоколирования стабильности сгустков крови во время их формирования и последующего фибринолиза. На основе изученных данных был разработан алгоритм дифференциальной диагностики нарушений гемостаза, основанный на данных тромбоэластометрии, который лег в основу разработки мобильного приложения для построения алгоритма исследования и интерпретации результатов тромбоэластометрии.

Ключевые слова: тромбоэластометрия, гемостаз, алгоритм, интерпретация результатов.

Abstract. Thromboelastometry is a method of assessment of system of a hemostasis based on continuous graphic recording of clots stability in time of their formation and the subsequent fibrinolysis. An algorithm for differential diagnosis of hemostasis disorders was developed based on thromboelastometry data, which served as the basis for the development of mobile applications to assist in the development of an algorithm for analysis and interpretation of thromboelastometry results.

Keywords: thromboelastometry, hemostasis, algorithm, results interpretation.

Doklady BGUIR. 2018, Vol. 113, No. 3, pp. 59-66

**Development of the algorithm of differential hemostatic diagnostics based on thromboelastometry data
D.G. Ratskevich, S.K. Dick, N.A. Shugaley**

Введение

Тромбоэластографическая система ROTEM разработана для диагностики *In vitro* в месте наблюдения за пациентом (РОС) или в лабораториях клиники. Система предназначена для обеспечения количественного и качественного измерения коагуляции образца крови. Система фиксирует кинетические изменения в образце цитратной цельной крови во время образования сгустков, а также при сжатии сгустка крови и/или его растворении (распадении). С этой целью измерены, исследованы, проконтролированы, обработаны и занесены в таблицы различные параметры свертывания. Графическое представление данных отражает различные физиологические явления, которые описывают взаимодействие компонентов, таких как факторы коагуляции крови и ингибиторы, фибриноген, тромбоциты и система фибринолиза. Кроме того, могут быть выявлены различные препараты, влияющие на гемостаз, в частности антикоагулянты [1].

Из-за относительной новизны метода тромбоэластометрии, при установке данной системы в учреждения здравоохранения на начальном этапе интерпретация результатов тромбоэластометрии может вызвать трудности у медицинского персонала. Для предотвращения этой проблемы было принято решение разработать мобильное приложение, позволяющее медицинским работникам правильно интерпретировать результаты полученных тестов и в соответствии с этим выбрать правильную методику лечения.

Теоретический анализ

Запатентованная технология ROTEM основана на неподвижной цилиндрической чаше и постоянно колеблющейся вертикальной оси (рис. 1).

Ось закреплена в высокоточном шарикоподшипнике и раскачивается влево и вправо с амплитудой в $4,75^\circ$. Вращение оси осуществляется с помощью двигателя, соединенного с осью эластичной пружины.

Для измерения имеющийся пластиковый стержень диаметром 6 мм прочно закрепляется на оси, а образец крови помещается в чашу диаметром 8 мм и далее направляется вверх к измерительному каналу. Далее пластиковый стержень погружается в образец крови. Вращение детектируется оптически при помощи зеркала в верхней части оси. В качестве источника света и светочувствительного элемента (ИС на ПЗС) используется диод. Если образования сгустка не происходит, то движение осуществляется беспрепятственно. Если образуется сгусток, который размещается между поверхностями стержня и чаши, то движение затрудняется. В результате устанавливается равновесие между натяжением пружины и напряжением сгустка. По мере уплотнения сгустка, амплитуда вращения оси уменьшается. Результаты измерения обрабатываются с помощью специального программного обеспечения.

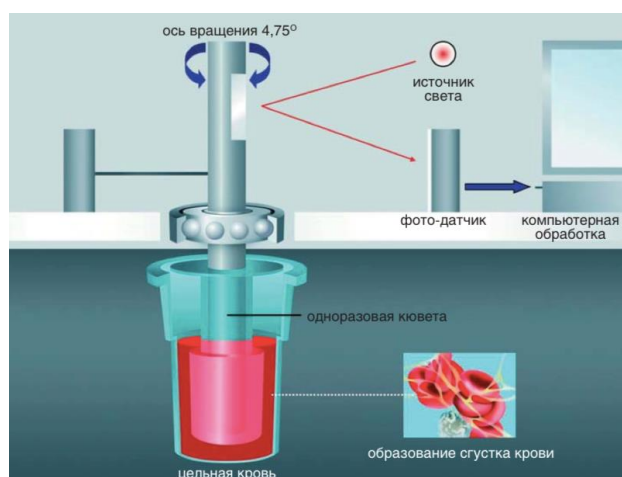


Рис. 1. Принцип работы тромбозластометра

Система ROTEM создает кривую реакции и рассчитывает различные числовые (кинетические и плотности) параметры с помощью математического анализа данной кривой.

Программное обеспечение ROTEM представляет усовершенствованный алгоритм сглаживания кривой и фильтр защиты от шума, предупреждающий возможные ошибки при возникновении механических или электронных помех. Параметры определяются в реальном времени во время тестов, рассчитаны и представлены графически в ТЕМограммах.

Как правило, результаты измерений обрабатываются согласно стандартным параметрам. На рис. 2 показаны наиболее важные стандартные параметры. На оси Y показана амплитуда в миллиметрах, на оси X – время в минутах [2].

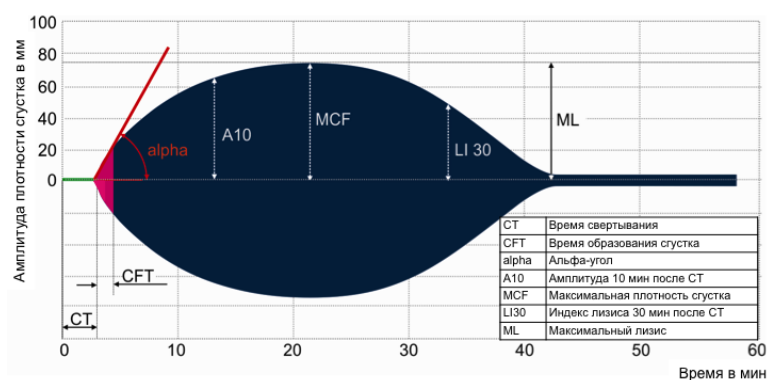


Рис. 2. Наиболее важные стандартные параметры

Рассмотрим стандартные параметры, получаемые при проведении тромбозластометрии.

СТ – время с момента начала теста, с момента добавления активатора свертывания, до момента, когда достигается амплитуда 2 мм. СТ указывает, насколько быстро начинается образование фибрина. Данный параметр аналогичен времени свертывания в классическом тесте на свертывание, проводимом в лаборатории. Тем не менее они не идентичны, поскольку должно быть

образовано и стабилизировано больше фибрина для достижения определенной плотности сгустка, достаточной, чтобы соединить две движущиеся части ячейки для измерения. Основные факторы свертывания крови – антикоагулянты (чувствительность зависит от теста). Параметр СТ упрощает принятие решения о замещении факторов свертывания крови (например, свежемороженая плазма, концентраты факторов свертывания крови, активированные концентраты факторов свертывания крови или ингибиторы антикоагулянта).

CFT – время между амплитудой 2 мм и амплитудой 20 мм сигнала свертывания. CFT описывает следующую фазу свертывания: динамику образования стабильного сгустка через активированные тромбоциты и фибрин. Основные факторы – количество тромбоцитов и их участие в уплотнении сгустка; уровень фибриногена и его способность полимеризоваться. Параметр CFT упрощает принятие решения о замещении концентратом тромбоцита или фибриногеном (как криопреципитат, свежемороженая плазма, концентрат фибриногена) или обоими. Сокращенное CFT отмечено при гиперкоагуляции (так же как параметр MCF (максимальная плотность сгустка) и угол альфа). В образцах с очень низким образованием сгустка время образования сгустка может быть не достигнуто и по этой причине не определено.

MCF – измерение плотности сгустка и, следовательно, качества сгустка. Это максимальная амплитуда, которая достигается перед растворением сгустка при фибринолизе и снижением его плотности. Основные факторы – тромбоциты, фибриноген (концентрация и способность полимеризоваться), F XIII, состояние фибринолиза. Низкий MCF указывает на низкую плотность сгустка и, следовательно, возможный риск кровотечения. Значение MCF используется для упрощения принятия решения о замещении терапии концентратом тромбоцитов или фибриногеном (концентрат, криопреципитат или свежемороженая плазма, если в наличии). Перед применением источника фибриногена, необходимо убедиться в отсутствии гиперфибринолиза, так как гиперфибринолиз может привести к возникновению нестабильного сгустка. Высокое значение MCF может указывать на гиперкоагуляцию.

Значения амплитуды через (x) минут представляют плотность сгустка. Амплитуда через (x) минут-значение – это амплитуда через определенное время x после СТ (например, A10 после 10 мин). Основные факторы – тромбоциты, фибриноген (концентрация, способность полимеризоваться), F XIII.

Параметр максимального лизиса (ML) указывает уровень фибринолиза в соответствии с максимальной плотностью сгустка (MCF), достигнутой в ходе измерения (% потерянной плотности сгустка). 5 % ML означает, что в период наблюдения MCF (максимальная плотность сгустка) понизился на 5 %. Поскольку максимальный лизис не рассчитывается на определенный момент времени, но определяется как % лизиса в конце этапа измерений, общее время рабочего цикла и время после максимального образования сгустка всегда принимаются во внимание.

В качестве скрининговых в ROTEM анализе используются EXTEM и INTEM тесты. EXTEM – основной тест, при котором для активации внешнего пути коагуляции используется рекомбинантный тканевой фактор. При определении параметров свертываемости крови с помощью EXTEM теста представляется информация о первичной активации и динамике образования сгустка, позволяя выявить проявления недостаточности факторов свертывания крови (внешнего пути).

При проведении INTEM теста в качестве контактного активатора внутреннего пути коагуляции используют эллаговую кислоту. Тест чувствителен к дефициту факторов свертывания крови, формирующих внутренний путь коагуляции.

Кроме основных, используются дополнительные тесты. Например, использование гепариназы для инактивации гепарина (HEPTEM) позволяет определить специфические действия антикоагулянтов. Проведение анализа с использованием ингибитора фибринолиза – апротинина (APTEM) позволяет количественно оценить процесс фибринолиза и эффект от проводимой антифибринолитической терапии. Сравнение результатов APTEM и EXTEM позволяет выявить гиперфибринолиз, что практически невозможно установить классическими лабораторными тестами.

В FIBTEM тесте активность тромбоцитов ингибируют цитохалазином D. При этом тромбоэластограмма отображает участие только фибрина в формировании тромба, позволяя выявить количественные и качественные дефекты его полимеризации. Таким образом, сравнение данных FIBTEM и EXTEM тестов позволяет дифференцировать причину нарушений тромбообразования [3].

Анализ данных

Для составления алгоритма дифференциальной диагностики основных нарушений гемостаза были рассмотрены результаты следующих тромбоэластограмм.

Нормальная свертываемость (рис. 3). Тесты INTEM и EXTEM показывают нормальную активацию свертывания (CT в норме), нормальное образование сгустка (CFT и MCF в норме), а также стабильность формирования сгустка (отсутствие лизиса в тестах INTEM, EXTEM, FIBTEM). Тест FIBTEM показывает нормальное формирование фибринового сгустка.

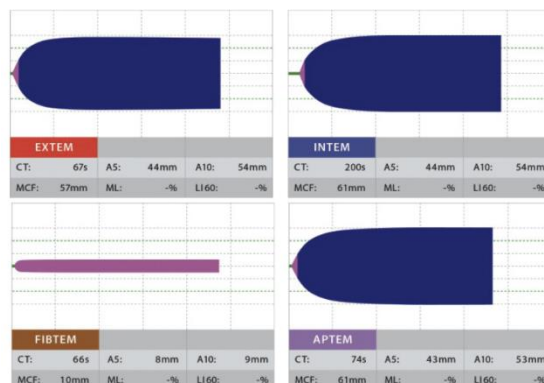


Рис. 3. Пример нормальных значений тестов ROTEM

Сильно удлиненное время формирования сгустка (CFT) (рис. 4), значительно сниженная твердость сгустка (MCF) в тестах INTEM и EXTEM указывают на уменьшенную гемостатическую емкость. Нулевая линия в тесте FIBTEM (отсутствие свертывания) указывает на сильно сниженный уровень фибриногена и/или нарушенную фибриновую полимеризацию.

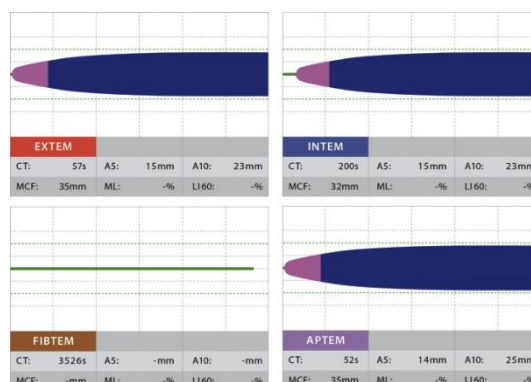


Рис. 4. Пример сильного увеличения времени формирования сгустка

Фибринолиз (лизис сгустка в тестах EXTEM, INTEM и FIBTEM) с одинаковым пограничным значением MCF (MCF = 47 мм в тесте APTEM), хороший фибриновый сгусток в тесте FIBTEM (рис. 5).

Пограничное значение твердости сгустка в INTEM и EXTEM (рис. 6). Нет доказательств гиперфибринолиза. Нормальный фибриновый сгусток в тесте FIBTEM. Сравнимые результаты иногда встречаются с или без клинического кровотечения [4].

Пограничные значения величины формирования сгустка в EXTEM и INTEM (в зависимости от исследуемой контрольной популяции) (рис. 7). Относительно высокая твердость сгустка в FIBTEM (MCF = 37) может привести к нормальной коагуляции цельной крови, даже при наличии тромбоцитопении. В данной ситуации необходимо определить количество крови (для оценки количества тромбоцитов).

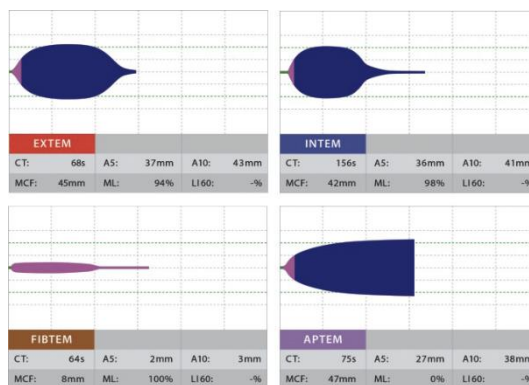


Рис. 5. Пример фибринолиза

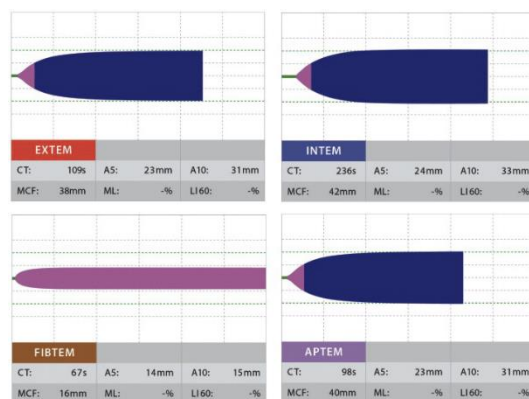


Рис. 6. Пример пограничного значения твердости сгустка

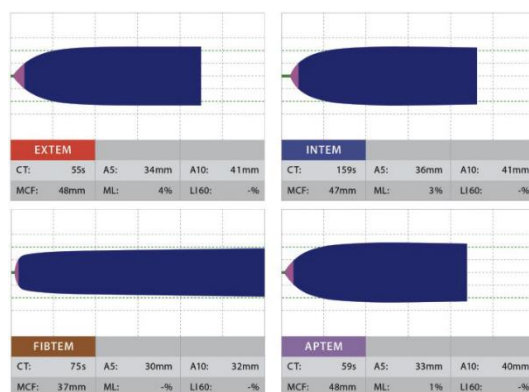


Рис. 7. Пример пограничного значения величины формирования сгустка

Комбинированное нарушение гемостаза (рис. 8). Наблюдается гиперфибринолиз (лизис сгустка в INTEM и EXTEM), удлиненный СТ в INTEM (действие гепарина), значительно снижена твердость сгустка в APTEM (указывает на нарушение образования сгустка, превышающее фибринолиз), а также отсутствие свертывания в FIBTEM (снижение фибриногена и / или полимеризации). Этот результат не совместим с клиническим нормальным гемостазом и требует быстрого комбинированного лечения.

Обнаружение гепарина (сильно удлинен СТ в тесте INTEM), исправлено в тесте НЕРТЕМ (рис. 9). В данной ситуации можно подождать (короткий период полувыведения гепарина) или нейтрализовать гепарин, используя протамина (при остром кровотечении). Как видно из НЕРТЕМ, твердость сгустка уменьшается, но все еще находится в приемлемом диапазоне [5].

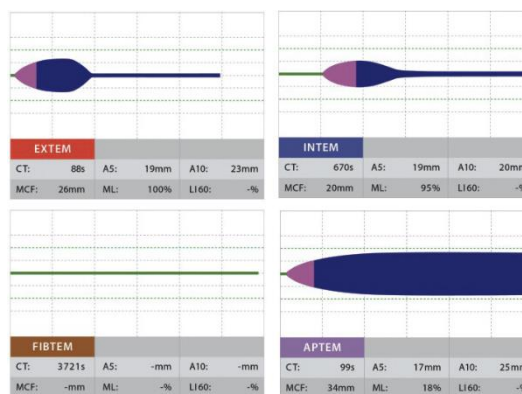


Рис. 8. Пример комбинированного нарушения гемостаза

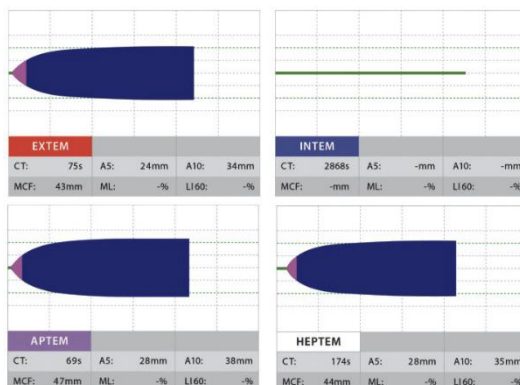


Рис. 9. Обнаружение гепарина

Разработка алгоритма дифференциальной диагностики нарушений гемостаза, основанного на данных тромбоэластометрии

Основываясь на данных, полученных выше, был разработан алгоритм дифференциальной диагностики и терапии нарушений гемостаза, основанный на данных тромбоэластометрии. При проведении анализа в первую очередь необходимо обратить внимание на значения CT, CFT, MCF и ML в тестах INTEM и EXTEM. Если данные значения находятся в пределах нормы, то кровотечение могло быть вызвано хирургической причиной, присутствием варфарина, наличием у пациента тромбоцитопении или болезни фон Виллебранда.

Повышенное значение CT в тесте EXTEM указывает на дефицит факторов свертываемости крови. При значении ML в тесте EXTEM $\geq 15\%$ также можно сделать вывод о дефиците факторов и провести тест APTEM. Если значения CT и/или CFT меньше аналогичных значений в тесте EXTEM, а значение MCF выше, то это свидетельствует о гиперфибринолизе. В случае, если значения равны аналогичным в тесте EXTEM – признаков гиперфибринолиза не обнаружено, присутствует дефицит фактора XII.

При повышенном значении CFT и/или пониженном значении MCF в тесте EXTEM необходимо проверить значение A10 в тесте FIBTEM. Его снижение указывает на наличие у пациента гипофибриногемии. Если значение в норме или повышено – тромбоцитопении.

При повышенном значении CFT и/или пониженном значении MCF в тесте INTEM необходимо проверить данные показатели в тесте HEPTEM. Если значения не изменились, то проверить A10 в тесте FIBTEM аналогичным способом, приведенным выше. Если значения CFT/MCF приняли нормальные значения, то можно сделать вывод о наличии свободного гепарина. При повышенном значении CT в тесте INTEM необходимо проверить аналогичный показатель в тесте HEPTEM. Если показатель остался повышенным, то делается вывод о наличии у пациента дефицита факторов свертываемости, если показатель пришел к норме – о наличии свободного гепарина. Полученный алгоритм дифференциальной диагностики и терапии нарушений гемостаза представлен на рис. 10.

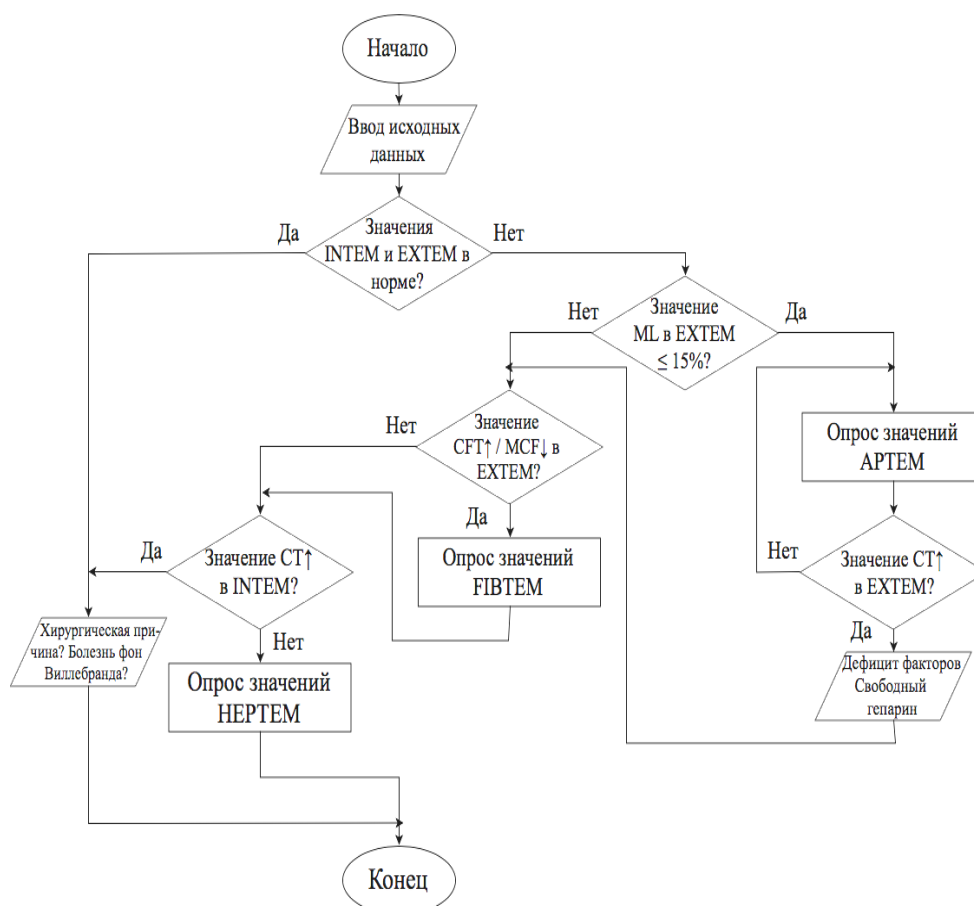


Рис. 10. Блок-схема алгоритма дифференциальной диагностики и терапии нарушений гемостаза

Заключение

В данной статье были рассмотрены основные примеры нарушений гемостаза. Из рассмотренных примеров можно заключить, что основными показателями для тестов INTEM и EXTEM являются клотинговое время (CT), время формирования сгустка (CFT), максимальная твердость сгустка (MCF) и показатель максимального лизиса (ML). Для теста APTEM – CT, CFT, MCF, ML; для теста HEPTEM – CT, CFT, MCF; для теста FIBTEM – показатель амплитуды сгустка на 10-й минуте (A10). Наиболее часто выполняемыми тестами являются тест на активацию внешнего пути свертывания (EXTEM), внутреннего пути свертывания (INTEM). Наиболее часто выполняемыми дополнительными тестами являются тест с использованием апротинина (APTEM) и тест с добавлением цитохалазина D для инактивации тромбоцитов (FIBTEM). Тест на детекцию гепарина (HEPTEM) используется только при нарушении показателей в тесте INTEM. На основе полученных данных был разработан алгоритм дифференциальной диагностики нарушений гемостаза, основанный на данных тромбозластометрии.

Список литературы

1. Adamzik M., Chapman M.P. ROTEM Delta WholeBlood Haemostasis System using Thromboelastometry. Munich: TEM Innovations GmbH, 2017. 164 p.
2. Whole blood coagulation thrombelastographic profiles employing minimal tissue factor activation / B. Sørensen [et al.] // *Thromb Haemost.* 2003. № 55. P. 1–8.
3. Гриневич Т.Н. Ротационная тромбозластометрия ROTEM как новый перспективный метод оценки системы гемостаза у пациентов травматологического профиля // *Новости хирургии.* 2010. № 2. С. 115–122.
4. Calatzis W. Schramm M.S. Management of Bleeding in Surgery and Intensive Care // *31st Hemophilia Symposium.* Hamburg, 2000. P. 55–63.
5. ROTEM Analysis Targeted Treatment of Acute Hemostatic Disorders / A. Calatzis [et al.]. Munich: TEM Innovations GmbH, 2017. 42 p.

References

1. Adamzik M., Chapman M.P. ROTEM Delta WholeBlood Haemostasis System using Thromboelastometry. Munich: TEM Innovations GmbH, 2017. 164 p.
2. Whole blood coagulation thrombelastographic profiles employing minimal tissue factor activation / B. Sørensen [et al.] // *Thromb Haemost.* 2003. № 55. P. 1–8.
3. Grinevich T.N. Rotacionnaja tromboelastometrija ROTEM kak novyj perspektivnyj metod ocenki sistemy gemostaza u pacientov travmatologicheskogo profilja // *Novosti hirurgii.* 2010. № 2. S. 115–122. (in Russ.)
4. Calatzis W. Schramm M.S. Management of Bleeding in Surgery and Intensive Care // 31st Hemophilia Symposium. Hamburg, 2000. P. 55–63.
5. ROTEM Analysis Targeted Treatment of Acute Hemostatic Disorders / A. Calatzis [et al.]. Munich: TEM Innovations GmbH, 2017. 42 p.

Сведения об авторах

Рацкевич Д.Г., магистрант кафедры электронной техники и технологии Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники.

Дик С.К., к.ф.-м.н., доцент, первый проректор Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники.

Шугалей Н.А., специалист по работе с клиентами ООО «Вест-Эко-Мед-С».

Адрес для корреспонденции

220020, Республика Беларусь,
г. Минск, пр-т. Победителей, 103, оф. 1014
ООО «Вест-Эко-Мед-С»
тел. 375-29-302-78-73;
e-mail: ratskevichdg@gmail.com
Рацкевич Дмитрий Геннадьевич

Information about the authors

Ratskevich D.G., master student of electronic technology and engineering department of Belarussian state university of informatics and radioelectronics.

Dick S.K., PhD, associate professor, first vice-rector of Belarussian state university of informatics and radioelectronics.

Shugaley N.A, customer service specialist of LLC «West-Eco-Med-S».

Address for correspondence

220020, Republic of Belarus,
Minsk, Pobediteley ave. 103, office 1014,
LLC «West-Eco-Med-S»
tel. 375-29-302-78-73;
e-mail: ratskevichdg@gmail.com
Ratskevich Dmitry Gennadievich