**Методы определения**

**активности факторов свертывания крови.**

Изучение механизмов свертывания крови и их регуляции невозможно без использования лабораторных исследований. На сегодняшний день известны практически все факторы, принимающие участие в каскаде свертывания. Открыты их первичная, вторичная и третичная структуры. Обнаружены и расшифрованы гены, ответственные за формирование этих факторов. В то же время в повседневной практике изучение процесса гемокоагуляции в организме человека осуществляется с помощью лабораторных методов. Материалом для коагулогических исследований является плазма.

При обнаружении патологических значений АЧТВ и/или ПВ проводится дальнейшая дифференциальная диагностика нарушений гемостаза. Установить точно, активность какого из факторов свертывания снижена в крови больного, позволяет лишь дополнительное обследование. Для этого используются тесты количественного определения факторов свертывания в плазме.

Наиболее распространенным способом определения дефицита факторов свертывания является одностадийный клоттинговый метод исследования с использованием субстратных (дефицитных) образцов плазмы, лишенных одного из факторов свертывания крови. Принцип метода заключается в определении промежутка времени после добавления стартового реактива, запускающего каскад свертывания плазмы в смесь субстратной (дефицитной) плазмы, в которой отсутствует исследуемый фактор, и исследуемой плазмы больного. Степень коррекции зависит от активности исследуемого фактора свертывания, поскольку активность других факторов свертывания в этой системе в норме. Далее активность дефицитного фактора в исследуемой плазме определяют по калибровочной кривой.

При проведении этого анализа необходимо соблюдать требования по приготовлению реагентов: разведение, прогревание, построение калибровочного графика. Правильность построения калибровочной кривой для определения активности отдельных факторов оценивают с помощью международных стандартов. Качественным критерием наборов с субстратной плазмой являются очень низкая или неопределяемая активность одного из факторов свертывания крови (менее 1%), нормальная активность других факторов, наличие в наборе калибраторов с дробным содержанием фактора, чтобы можно было построить калибровочную кривую как в зоне с нормальным, так и патологическим содержанием фактора свертывания.

Метод применяется для диагностики врожденных и приобретенных дефицитов факторов внутреннего пути свертывания. Основными ограничениями метода определения активности факторов свертывания одностадийным методом является его чувствительность к присутствию в образце крови гепарина или непрямых антикоагулянтов, волчаночного антикоагулянта.

Используется также хромогенный метод определения активности факторов свертывания крови. Синтетический субстрат представляет собой молекулу, которая распознается и разрезается сериновой протеиназой. Этот разрез ведет к отщеплению от субстрата сигнальной молекулы, метки. Метка либо изменяет оптическую плотность раствора (хромогенный, т.е. окрашивающий субстрат), либо способна флуоресцировать при освещении (флуорогенный субстрат). Субстрат можно добавлять в исследуемую плазму и записывать сигнал, получающийся при свертывании. К преимуществам хромогенного метода по сравнению с одностадийным методом является его резистентность к волчаночному антикоагулянту, гепарину или другим антикоагулянтам (например, ингибиторам тромбина) Ограничением метода является использование специального оборудования и высокая стоимость исследования.

Таким образом, все имеющиеся в настоящее время методы определения дефицита факторов свертывания являются трудоемкими, требующими специального оборудования, выполняются врачами-лаборантами, специалистами в области гемостаза и применяется только в узкоспециализированных стационарах. Во многих стационарах нет условий, оборудования и специалистов для проведения подобных исследований. В результате при выявлении нарушений в системе гемостаза отменяются либо откладываются инвазивные вмешательства, не редко лечение проводится без установленного диагноза и может оказаться неэффективным.

Врачи клинической лабораторной диагностики ГЦЛГ: Крашенинникова О. А., Позднякова В. А.