**Скрининговые тесты плазменного гемостаза:**

**определение фибриногена**

Определение коагулологической активности факторов общего пути свертывания крови имеет принципиальное значение при клинико-лабораторной диагностике поражений системы гемостаза. Одним из наиболее значимых в данном отношении является определение фибриногена, повышение или дефицит содержания которого часто обуславливает развитие тромботических или геморрагических состояний соответственно.

Фибриноген представляет собой главный субстрат свертывающей и противосвертывающей систем, из которого под действием тромбина образуется фибриновая основа сгустка крови (тромба), обеспечивающего полноценный гемостаз. Фибриноген является эуглобулином, белком острой фазы, гликопротеином с молекулярной массой 340000Д, синтезируется в паренхиматозных клетках печени и поступает в кровь.

Определение фибриногена - это один из рутинных тестов коагулограммы, выполняемый различными методами. Измерения могут быть ручными и автоматизированными, коагулологические анализаторы могут быть механическими, оптическими и совмещающими оба способа измерения.

**1. Определение содержания фибриногена в плазме крови по методу Рутберг**

**(гравиметрический метод)**

**Принцип.** Образовавшийся в результате свертывания плазмы крови фибрин быстро высушивают и взвешивают. По его массе судят о количественном содержании фибриногена. Количество образовавшегося фибрина эквивалентно содержанию фибриногена в плазме.

К 1,0 мл плазмы добавляют 0,1 мл 0,45 моль/л раствора хлорида кальция. Инкубируют при 37 °С на 10 мин. За этот период происходит образование сгустка. Далее сгусток переносят на обеззоленный бумажный фильтр и просушивают другим фильтром до сухого состояния, т. е. до тех пор, пока на фильтре не останется влажного пятна. Сгусток высушенного фибрина немедленно взвешивают на торсионных весах.

В норме масса сгустка составляет 9—15 мг.

Для определения концентрации фибриногена, выраженной в г/л, массу сгустка фибрина умножают на экспериментально установленный коэффициент 0,222.

**Недостатки:**

**-**практически невозможно стандартизировать (сильное отжимание сгустка на фильтровальной бумаге приводит к потерям фибрина, слабое отжимание – к завышению уровня фибриногена);

-сгусток может быть рыхлым вследствие наличия ингибиторов тромбообразования;

- большой объем используемой плазмы ограничивает применение в педиатрии;

-максимальный контакт персонала с кровью.

В настоящее время ВОЗ и Российские Ассоциации по гемостазу и методам лабораторной диагностики считают применение весовых методов (в частности, по Рутберг) не отвечающими современным требованиям.

**2. Определение фибриногена по Клауссу**

Методом по Клауссу определяют содержание функционально активного фибриногена в плазме по калибровочной кривой, полученной с помощью плазмы-калибратора. Этот метод считается наиболее адекватным тестом, выполняемым на коагулометрах. Он основан на определении времени выпадения сгустка при добавлении очень высокой концентрации тромбина к разбавленной в 10-20 раз плазме. При этом логарифм времени выпадения сгустка прямо пропорционален логарифму концентрации фибриногена. Калибровочная кривая показывает укорочение времени свертывания при увеличении концентрации фибриногена. Если время свертывания очень короткое (<5с), то тест проводится на разведенной плазме. Гепарин не оказывает влияния на результаты определения фибриногена.

При нормальных концентрациях фибриногена метод характеризуется коэффициентом вариации около 5%. Содержание фибриногена, определяемого данным способом, зависит от наличия в образце продуктов деградации фибрина и снижено по сравнению с результатами других методов при дисфибриногенэмии.

**3. Иммунохимические методы**

Иммунохимические методы для определения фибриногена основаны на турбидиметрическом или нефелометрическом способах регистрации, использовании поликлональных антител и адаптированы на иммунохимические анализаторы. Как правило, для каждого иммунохимического анализатора применяется специфический тест-набор на фибриноген.

Основными недостатками иммунохимических методов является:

- длительность выполнения тестов;

- измерение концентрации белка, а не его активности;

- не дифференцируются нативный фибриноген и продукты его деградации, это особенно существенно при ведении больных на тромболитической терапии, обширных тромбозах и ДВС-синдроме, когда происходит значительное увеличение в плазме ПДФ.

ELISA-метод основан на применении специфических моноклональных антител. Однако этот метод очень дорог и пока не нашел широкого применения в лабораторной практике для определения фибриногена.

**4.Определение концентрации фибриногена в протромбиновом тесте (PT derived Fibrinogen)**

Анализатор калибруется при исследовании протромбинового время плазмы (или серии разведений плазмы) с известной концентрацией фибриногена и построения графиков изменения оптической плотности по отношению к концентрации фибриногена в логарифмических шкалах.

Применение PT-Fg метода обеспечивает быстрое измерение фибриногена без каких-либо дополнительных затрат. Данный метод применим только на автоматических анализаторах, и результаты зависят от метода калибровки, типа анализатора и реагентов, и оптической прозрачности пробы.

Не рекомендован к применению у больных с ДВС, заболеваниями печени, почек, дисфибриногенемией, с высоким или низким уровнем фибриногена, получавших антикоагулянты, тромболитическую терапию.

**Интерпритация результатов**

Референтный диапазон для фибриногена в плазме составляет 1,8 – 4,0 г/л, практически не зависит т возраста и пола. Печень синтезирует 2-5 г фибриногена в день, время полувыведения фибриногена из крови составляет около 4 дней.

Фибриноген – острофазный белок. Концентрация его может превышать 10 г/л при тяжелых бактериальных ифекциях, при травме и тромбозе. Повышение уровня фибриногена в острой фазе воспаления, как правило, имеет транзиторный характер. У курящих людей уровень фибриногена в плазме крови несколько выше, чем у некурящих. К значительному росту фибриногена приводят заболевания почек, коллагенозы, ночная пароксизмальная гемоглобинурия, новообразования (рак легкого), уровень фибриногена может повышаться при беременности, при приеме гормональных противозачаточных препаратов. При атеросклерозе наблюдается устойчивое увеличение фибриногена, трудно корригируемое лекарственными препаратами. Обнаружено, что повышение уровня фибриногена в плазме крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями предшествует развитию инфаркта миокарда и инсульта. Корреляция между уровнем фибриногена и развитием этих осложнений особенно четко прослеживается у пациентов молодого и среднего возраста.

Снижение концентрации фибриногена в плазме наблюдается при врожденном дефиците фибриногена, дис-/гипо-,афибриногенемиях, печеночно-клеточной недостаточности, ДВС- синдроме, острых фибринолитических состояниях, поражениях костного мозга (лейкоз, опухолевые метастазы), при инфекционном мононуклеозе.

Врачи клинической лабораторной диагностики ГЦЛГ:

Климова Н. И., Крашенинникова О. А.