

616.151.5-008.61-036.11-074

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AKUTNÍCH HYPERKOAGULAČNÍCH STAVŮ

Pplk. MUDr. Vladimír FILIP, pplk. MUDr. Jaroslav ELIS, ing. Marie ZICHOVÁ, CSc.,
František PALA

Oddělení hematologie a krevní transfúze, Ústřední vojenská nemocnice, Praha
(náčelník: plk. doc. MUDr. Evžen Skala, CSc.)

Oddělení pro nemoci nervové, Ústřední vojenská nemocnice, Praha
(náčelník: plk. MUDr. Jaroslav Janák)

Oddělení nukleární medicíny, Ústřední vojenská nemocnice, Praha
(náčelník: plk. MUDr. Miroslav Vodák, CSc.)

Za hlavní patogenetické mechanismy hyperkoagulability [3, 6, 8] pokládáme:

1. zvýšenou koncentraci koagulačních faktorů v krvi s jejich aktivací a nedostatečnou clearancí retikuloendoteliem

2. zvýšený počet krevních destiček a jejich aktivaci s vyplavením vázoaktivních látek z nitra destiček

3. změny koncentrace koagulačních inhibitorů, především snížení antitrombinu III

4. změny v metabolismu cévní stěny různé etiologie (fyzikální, chemické nebo infekční, aterosklerotické změny aj.)

5. změny ve fibrinolytickém systému

6. změny v krevním toku (stáza, zvýšená viskozita krve).

Narůstající výskyt tromboembolických stavů vedl k hledání stále citlivějších testů, které by co nejlépe postihly všechny výše uvedené mechanismy, přispěly k diferenciální diagnóze a usnadnily cílenou léčbu. Přesto nemáme dosud test se stoprocentní záchytností a musíme užívat kombinace několika testů.

Cílem naší práce bylo ověřit si citlivost a význam některých laboratorních testů u nemocných s akutními hyperkoagulačními stavy.

Soubor vyšetřených a metodika

V období let 1985–1987 jsme vyšetřili 124 nemocných, kteří byli hospitalizováni v Ústřední vojenské nemocnici. Kontrolní skupinu tvořilo 30 zdravých osob. Nemocné jsme rozdělili do 6 skupin (tab. 1). Šlo převážně o těžce nemocné, z nichž někteří byli hospitalizováni na resuscitačním oddělení (sk. III) nebo na jednotce intenzivní péče (sk. I a V). Soubor jsme doplnili 4 nemocnými s diseminovanou intravaskulární koagulací.

Tab. 1

Skupiny nemocných	Počet	Ø věk	m/ž
I. Trombózy anebo plicní embolie	41	42,6	30/11
II. Centrální ischemické mozkové příhody	36	55,0	30/6
III. Polytraumata, sepse, těžké infekce	17	30,0	14/3
IV. Maligní hematologická onemocnění	13	46,3	7/6
V. Ischemické choroby srdce	13	52,6	10/3
VI. Diseminovaná intravaskulární koagulace	4	74,8	0/4
Celkem	124	50,2	91/33
Kontrolní skupina	30	40,6	22/8

Vyšetření jsme prováděli podle jednotného postupu při příjmu nemocných. Vyšetřovali jsme běžně užívanými metodami:

— hladinu fibrinogenu (Fbg) — biuretovou metodou s použitím trombinu,

— počet destiček (Trc) — podle Björkmanna,
— degradační produkty fibrinogenu (FDP), fibrinogenu D (FDP D), fibrinogenu E (FDP E) v séru — jednoduchou imunoprecipitační metodou v kapiláře, pomocí specifických antiser ÚSOL,

— etanolový gelační test (ET) — podle Lallala,

— protaminsulfátový test (PS) — podle Kowalského a Seamana,

Tab. 2

Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky												
procento patologických nálezů												
	Fbg g/l	Trc 10 ⁹ /l	FDP mg/l	FDP D mg/l	FDPE mg/l	ET pos. neg.	PS pos. neg.	AT III p nkat/l	AT III s nkat/l	APTT sec	cPA index	beta TG ng/ml
K	3,61 ±0,62	202,87 ±34,77	3,50 ±4,65	2,50 ±5,59	0	0	0	212,13 ±39,61	187,43 ±32,02	36,79 ±3,20	0,91 ±0,04	35,33 ±7,35
I	5,78 ⁺⁺ ±1,94	273,88 ⁺ ±144,68	19,56 ⁺⁺ ±15,85	20,71 ⁺⁺ ±15,51	9,88 ⁺⁺ ±15,12	++	++	161,02 ⁺⁺ ±56,52	121,00 ⁺⁺ ±52,96	34,20 ⁺ ±5,06	0,87 ⁺⁺ ±0,08	92,48 ⁺⁺ ±62,29
	75,60	46,34	65,85	70,73	31,70	41,46	19,51	58,54	75,60	51,22	34,15	75,00
II	4,54 ⁺⁺ ±1,31	234,11 ±111,62	14,00 ⁺⁺ ±12,42	12,17 ⁺⁺ ±12,13	6,64 ⁺⁺ ±11,82	++		185,67 ⁺ ±45,97	148,03 ⁺⁺ ±45,32	34,09 ⁺⁺ ±4,18	0,89 ±0,05	92,21 ⁺⁺ ±51,08
	47,22	30,56	61,11	57,78	25,00	27,77	11,11	50,00	63,89	33,33	11,11	93,33
III	6,64 ⁺⁺ ±2,16	317,82 ⁺⁺ ±151,47	27,76 ⁺⁺ ±13,58	27,71 ⁺⁺ ±13,10	18,88 ⁺⁺ ±14,67	++	++	135,88 ⁺⁺ ±49,77	96,24 ⁺⁺ ±38,24	32,35 ⁺⁺ ±5,62	0,86 ⁺⁺ ±0,07	137,70 ⁺⁺ ±84,52
	88,23	64,70	88,23	94,11	64,70	64,70	41,18	76,47	94,11	64,70	41,18	77,77
IV	5,07 ⁺⁺ ±2,56	296,62 ⁺⁺ ±160,72	17,77 ⁺⁺ ±11,66	18,38 ⁺⁺ ±21,38	7,69 ⁺⁺ ±11,87	+		170,00 ⁺⁺ ±51,15	126,85 ⁺⁺ ±46,91	36,73 ±7,02	0,89 ±0,07	88,98 ⁺⁺ ±37,54
	53,85	38,46	76,92	61,54	30,77	15,38	7,69	46,15	61,54	30,77	23,08	83,33
V	4,88 ⁺⁺ ±1,48	245,62 ±133,15	14,35 ⁺⁺ ±9,60	14,69 ⁺⁺ ±15,64	5,31 ⁺⁺ ±10,25	+		158,85 ⁺⁺ ±33,21	136,23 ⁺⁺ ±32,50	31,93 ⁺⁺ ±3,58	0,87 ⁺ ±0,07	52,85 ⁺ ±24,59
	58,85	30,77	69,23	53,85	23,08	15,38	0	61,54	76,92	69,23	38,46	50,00
VI	2,20	77,25	78,00	83,75	105,50			101,50	80,75	53,88	0,92	—
	75,00	100,00	100,00	100,00	75,00	75,00	75,00	100,00	100,00	100,00	0	—

+ = p < 0,05 ++ = p < 0,01

— antitrombin III v plazmě i v séru (AT III p, AT III s) — chromogenní metodou podle Rybáka,
 — aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT) — s použitím APTT-setu ÚSOL,
 — cirkulující destičkové agregáty (cPA) — podle Wua a Hoaka,
 — beta-tromboglobulin v plazmě (beta TG) — RSA metodou (RCC Amersham).

Výsledky

V tabulce 2 uvádíme průměrné hodnoty, směrodatnou odchylku, procento patologických nálezů a statistickou významnost jednotlivých vyšetření uvedených skupin. Označením +, ++, je vyjádřena 5% a 1% statistická významnost vyšetření skupin I—V proti skupině kontrolní (K). Statistická významnost vyšetření mezi jednotlivými skupinami I—V je uvedena v tab. 3. Skupina VI nebyla pro malý počet nemocných statisticky hodnocena, jsou uvedeny pouze průměrné hodnoty a procento výskytu patologických hodnot. Tato skupina je charakterizována hypofibrinogenémií, trombocytopenií, vysokou hladinou fibrinogenových degradačních štěpů a pozitivními parakoagulačními testy. Ve všech případech byla rovněž snížena aktivita antitrombinu III a prodloužení APTT.

Statistické hodnocení bylo provedeno nepárovým t-testem. Kontrolní skupina měla interval spolehlivosti $p < 0,01$. Jako patologické označujeme hodnoty lišící se statisticky významně od kontrolní skupiny.

Tab. 3

$p < 0,01$	Fbg	I : II, III:II
	FDP	II : III, III:V
	FDP D	I : II, II:III
	FDP E	II : III
	ET	II : III, III:IV, V
	PS	II : III, III:V
	AT III p	II : III
	AT III s	II : III, III:V
	APTT	I : V
	beta TG	III : V
$p < 0,05$	Fbg	III : IV
	Trc	II : III
	FDP	III : IV
	FDP D	III : V
	FDP E	III : IV, V
	PS	II : IV
	AT III p	I : II
	AT III s	I : II
	APTT	IV : V

Diskuse

Ve všech skupinách sledovaného souboru byly statisticky významně časté nálezy hyperkoagulačního charakteru (tab. 2). Camacho aj. [1] ve svém souboru 120 akutních i chronických hyperkoagulačních onemocnění zjistili zvýšené hodnoty fibrinogenu v 66 %, FDP v 55 %, FDP D a E v 33 % a snížení AT III v 34 %. Vyšší výskyt patologických nálezů v našem souboru je pravděpodobně způsoben těžkým stavem vyšetřovaných nemocných.

Tab. 4

Z. J. 40 r.	Před operací*)	1. pooperační den	4. pooperační den	9. pooperační den	17. pooperační den
← Heparin 5 tis. j. 3 × d. s. c. →					
Fbg g/l	5,60	4,20	6,80	5,80	3,35
Trc 10 ⁹ /l	196	261	323	301	241
FDP mg/l	27	26	24	15	0
FDP D mg/l E	25 0	24 0	24 0	24 0	0 0
ET PS	+ +	0 0	+ +	0 0	0 0
AT III p nkat/l s	90 80	64 45	80 72	90 45	150 100
APTT sec	27,9	40,4	32,3	33,6	39,8
cPA index	0,84	0,96	0,87	0,90	0,92

*) před podáním heparinu ACP = acylpyrin

Nejvyšší výskyt patologických nálezů jsme zjistili ve III skupině. Těžká tkáňová poškození a některé infekce (purulentní meningitida) způsobují svým hemodynamickým stresem, hypoxií a vázotoxickými vlivy výrazné změny koagulačních mechanismů, aktivaci destiček a změny fibrinolýzy, které vedou často k trombóze (3, 7, 8). Laboratorní sledování těchto nemocných může mít tedy význam pro včasné zahájení jejich racionální léčby. Významné nálezy, ale s nižším výskytem pozitivitu, jsme zjistili též ve skupině I, která se statisticky neodlišuje od sk. III (tab. 3). Závažnost nálezů je nutno hodnotit až po komplexním posouzení více testů: hladiny fibrinogenu, jeho degradačních produktů, pozitivitu parakoagulačních testů a beta-TG (3, 4, 15). Snížení AT III pod 75 % normální hodnoty vždy značí zvýšené riziko trombózy (8). Významnější je jeho snížení v séru, což spolu se zkrácením APTT svědčí pro výraznou trombotickou pohotovost. Dobře je to patrné u nemocného s anamnesticky zjištěnou trombózou a plicní embolizací, u něhož bylo nutné provést operační zákrok (tab. 4). Správná anti-koagulační léčba zabezpečila pooperační průběh bez komplikací. Každý nemocný s trombofilní anamnézou a také nemocný vyššího věku by měl být hemokoagulačně vyšetřen (12).

Samotné zvýšení koncentrace fibrinogenu v plazmě může být součástí akutní reaktivní fáze na začátku onemocnění a je přechodné. Avšak i v tom případě se zvyšuje trombotický potenciál, poněvadž fibrinogen je jedním z proteinů, který zvyšuje nejen viskozitu plné krve, ale i agregaci destiček, erytrocytů a leukocytů (6, 10, 13).

Významnou roli v patogenezi trombóz mají destičky především svou citlivostí na řadu stimulačních látek (kolagenu, trombinu, ADP apod.) (5, 7). Sama trombocytóza je méně významná, důležitý je průkaz aktivace destiček, který lze provést různými metodami (2). Velmi citlivým znakem je beta tromboglobulin — protein, který se při aktivaci destiček z nich uvolňuje do plazmy (9, 15). Ve všech skupinách jsme zjistili statisticky významné odchylky od kontrolní skupiny. Nálezy jsou srovnatelné s nálezy Hulsteina aj. (9), který u skupiny nemocných s trombózami a plicními emboliemi našel $84,4 \pm 17,1$ ng/ml a s infarktem myokardu $63,3 \pm 33,5$ ng/ml beta TG. Se zvyšujícím se věkem a u těžkých poškození ledvin se hodnoty beta TG zvyšují, a je proto nutné k tomu přihlídnout (14). Našich 8 osob ve věku 65—76 let mělo hodnoty $50,75 \pm 11,0$ ng/ml.

Sledování cirkulujících destičkových agregátů má zřejmě menší význam a i v literatuře se uvádějí protichůdné výsledky (11, 14). Sami jsme pozorovali významně vyšší výskyt agregátů u nemocných I., III. a V. skupiny, bez korelace s beta TG. V některých skupinách jsme zjistili závislost počtu agregátů na zvýšení počtu destiček.

Nemocní s ischemickým cerebrovaskulárním

onemocněním vykazují nekonstantní abnormality testů krevní koagulační destičkových funkcí. Tyto abnormality jsou odrazem trombózy zvl. v místech zúžení cév aterosklerotickými pláty nebo v místě krvácení do těchto plátů. V současné době se zde zdůrazňuje význam snížené regulace mozkového průtoku, závislé na průměru cév, tlakovém gradientu, reologických vlastnostech krve, nitrolebním tlaku a srdečním výkonu. Za důležité rizikové faktory se pokládají, vedle zvýšené koncentrace fibrinogenu v plazmě, zvýšená viskozita krve, podmíněná především zvýšením její hematokritové hodnoty, ev. snížená deformabilita erytrocytů (6, 10). Ve sledované skupině jsme zvýšení fibrinogenu pozorovali v 47,2 %, zvýšení hematokritu jsme nemohli spolehlivě prokázat, protože se hodnoty překrývaly s kontrolní skupinou, která pro hodnocení tohoto (nekoagulačního) parametru byla malá. Rovněž ostatní nálezy svědčí pro aktivaci koagulačního systému, avšak v menší míře v porovnání s ostatními skupinami. Znalost těchto nálezů v časné fázi onemocnění může pomoci lépe medikamentózně ovlivnit vzniklá ischemická ložiska.

Závěrem lze říci, že získané nálezy prokázaly, že laboratorní metody, které máme k dispozici, mají dostatečnou citlivost a jsou užitečné v diagnostice akutních hyperkoagulačních stavů. Mají svůj význam i v prevenci a léčbě tromboembolických komplikací.

Literatura

1. CAMACHO, A. - GOENAGA, J. - BARBUDO, C.: Hypercoagulability states. IX th International Congress on Thrombosis and Haemostasis. Thromb. Haemost., 50, 1983, č. 1, s. 467.
2. CHEN, Y. Ch. - WU, K. K.: A Comparison of Methods for Study of Platelet Hyperfunction in Thromboembolic Disorders. Brit. J. Haem., 46, 1980, č. 2, s. 263 až 268.
3. BERGQUIST, D.: Post-Operative Thromboembolism, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1983.
4. BUBE, F. W. - EGENOLF, I.: Über den Nachweis fibrinolytischer Spaltprodukte bei Patientenkollektiven mit gestörter Hämostase. Folia Haemat. (Lpz.), 108, 1981, č. 3, s. 447—454.
5. BORN, G. V. R.: Platelets in Atherogenesis and Thrombogenesis, in Atherosclerosis, Mechanismus and Approches to Therapy, Ed. N. E. Miller, Raven Press, N. York, 1984, s. 45—53.
6. DORMANDY, J. A.: Haemorheological Aspects of Thrombosis, Brit. J. Haemat., 45, 1980, č. 4, s. 519 až 522.
7. DROUET, L. - CARRIER, J. L. - ROSA, J. P. - LEGRAND, Y. - CAEN, J. P.: Platelet Deposition — Biology and Pathology of the Vessel Wall, Neville Woolf, Praeger, USA, 1983.
8. HILLER, E.: Pathogenese venöser Thrombosen, Münch. Med. Wschr., 127, 1985, č. 5, s. 68—70.
9. HULSTEIN, H. van - BERTINA, R. M. - BRIËT, E.: Beta-thromboglobulin is a More Sensitive Index of in Vivo Alpha Granule Release Than Platelet Factor 4, IX th International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Thromb. Haemost., 50, 1983, č. 1, s. 134.
10. JONESCU, D. A. - GHITESCU, M. - MARCU, J.: Erythrocyte Rheology in Acute Cerebral Thrombosis —

- Effects of ABO Blood Groups, *Blut*, 39, 1979, č. 5, s. 351—357.
11. KOHANA, F. H. - SMITH, M. H. - SALZMAN, E. W.: Do Patients With Thromboembolic Disease Have Circulating Platelet Aggregates?, *Blood*, 64, 1984, č. 1, s. 250—209.
 12. MARTIN, M.: Blutgerinnung und der Alter. Teoretische und klinische Aspekte. *Münch. Med. Wschr.*, 129, 1984, č. 43, s. 1225—1229.
 13. METTINGER, K. L.: Cerebral Thromboembolism. A Cause/control and Longitudinal Study of Blood Coagulation, Mechanismus and Approches to Therapy. Ed. N. E. Miller, Raven Press, N. York, 1984.
 14. SIE, P. - COUSIN, F. - BARRET, A.: Les limites des Tests d'agregation plaquettaire dans l'exploration des thromboses. *Nouv. Presse méd.*, 9, 1980, č. 36, s. 2635—2638.
 15. ZAHAVI, J. - KAKKAR, V. V.: Beta-Thromboglobulin—a Specific Marker of In Vivo Platelet Release Reaction, *Thromb. Haemost.*, 44, 1980, č. 1, s. 22—29.