



# ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К КОМПЛЕКСУ ТФ4-ГЕПАРИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ACL AcuStar

**Морозов Ю.А.**

Российский научный центр хирургии имени  
академика Б.В. Петровского РАМН, Москва

# ПОЧЕМУ ПРОБЛЕМА ГИТ МАЛОИЗВЕСТНА ВРАЧАМ?

- ❖ Это редкая патология
- ❖ Не каждый пациент, попавший в стационар, получает гепарин
- ❖ Нет общей объединяющей клинической картины и лабораторных критериев
- ❖ Большинство госпитализированных больных с тромбоцитопенией имеют многофакторную ее этиологию
- ❖ Достаточно отменить гепарин, чтобы решить проблему ГИТ...
- ❖ ... или начать НМГ и больше не беспокоиться об этом...
- ❖ ... или начать использовать варфарин.
- ❖ Это ДВС-синдром и мы должны продолжать вводить гепарин
- ❖ Это «придумали» ученые в «отрасли»



# ОПРЕДЕЛЕНИЕ

## ГЕПАРИНИНДУЦИРОВАННАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ (ГИТ)

**ЛАБОРАТОРНО-КЛИНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС  
СИМПТОМОВ, ПРОЯВЛЯЮЩИЙСЯ В РЕЗКОМ  
СНИЖЕНИИ ЧИСЛА ТРОМБОЦИТОВ НА  
ВВЕДЕНИЕ ГЕПАРИНА И ВОССТАНОВЛЕНИИ ИХ  
КОЛИЧЕСТВА ПОСЛЕ ОТМЕНЫ ГЕПАРИНА**

# ПАТОГЕНЕЗ ГИТ (Warkentin T.E., 1997)

Введение гепарина



Образование комплекса ТФ4-Гепарин



ГТФ4 + FcγRIIa на тромбоцитах



Гиперагрегация  
тромбоцитов,  
микротромбообразование



**Артериальные и венозные  
тромбозы**



ГТФ4 + IgG на эндотелии



Выброс тромбопластина



**ДВС-синдром**



# FcγRIIa-РЕЦЕПТОР

✓ Находится на моноцитах, гранулоцитах, эозинофилах, макрофагах, В-лимфоцитах

✓ Осуществляет связь с IgG

✓ Описаны подтипы RI (CD64), RII (CD32), RIII (CD16)

✓ RI (CD64) – обладает высоким аффинитетом к IgG, играет роль в **раннем иммунном ответе**

RII (CD32)  
RIII (CD16) { низкая аффинность к IgG,  
играет роль в **позднем иммунном ответе**

# КЛАССИФИКАЦИЯ

## ГИТ I ТИПА

### **Механизм неиммунный**

Через 1-2 дня после начала гепаринотерапии

Снижение тромбоцитов на 10-20% от исходных значений

Отмены гепарина не требуется

Встречается до 10% у всех пациентов, получающих гепарин

## ГИТ II ТИПА

### **Механизм иммунный**

Через 5-15 дней после начала гепаринотерапии

Снижение тромбоцитов на 50% и более от исходных значений

Немедленная отмена гепарина, переход на альтернативные средства

3-5% больных, леченных НФГ

# КЛАССИФИКАЦИЯ

**Начало гепаринотерапии (введение гепарина)**

Ранее  
начало ГИТ

Типичное  
(4-15 день)  
начало ГИТ

Отсроченное  
(позднее)  
начало ГИТ

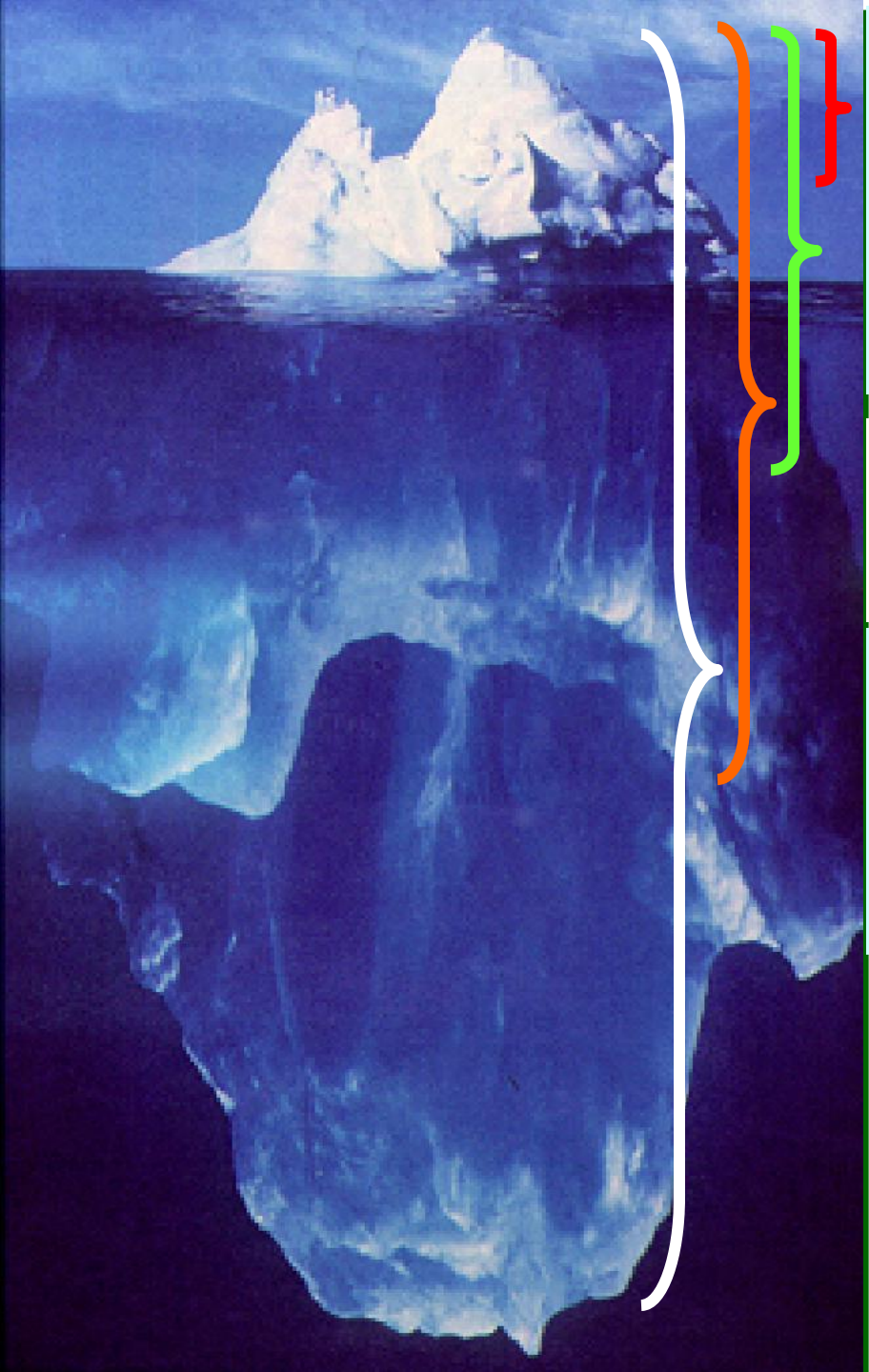
1 день

5 день

15 день

30 день

**Тромбоцитопения (+ тромбозы)**



**Множественные тромбозы:**  
Эндотелиальная активация при:  
ДВС-синдроме, альтернативной  
активации тромбоцитов IgG, приеме  
лекарств

**Тромбозы: 0,2-1%**  
Внутривенные катетеры  
Обездвиженность

**Тромбоцитопения: 1-3%**  
Доза гепарина  
Плотность Fc-рецепторов, генотип  
Воспаление  
Используемые критерии ГИТ

**Образование антител: 3-60%**  
Тип гепарина, его сульфатирование  
Дооперационный уровень ТФ4  
Неиммунная активация тромбоцитов



# ТЕСТЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГИТ

**1. ИММУННЫЕ** – определение антител к комплексу гепарину

- иммунотурбидиметрический
- хемилюминисцентный
- ELISA
- полуколичественные тест-полоски

**2. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ** – гепарин-индуцированная агрегация тромбоцитов

- тест высвобождения серотонина
- гепарин-индуцированная агрегация тромбоцитов
- тесты высвобождения содержимого тромбоцитарных гранул

**3. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ** – возможность «ответа тромбоцитов» на последующее введение гепарина

- иммуноглобулиновый коэффициент

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГИТ

Функциональные методы	Иммунологические методы
тест агрегации тромбоцитов	ELISA-тест на твердой фазе с анти-ГТФ4-антителами
тест выделения $^{14}\text{C}$ -серотонина	ELISA-тест с антигенами к ТФ4-полисульфонату
гепарин-индуцированная агрегация тромбоцитов	иммуноферментный тест в жидкой фазе
люмиагрегометрический метод определения высвобождения АТФ	тест с использованием частиц геля
тест связывания аннексина V с тромбоцитами	
определение экспрессии Р-селектина на клеточной поверхности	

# КАЧЕСТВЕННЫЙ ЭКСПРЕСС-ТЕСТ

Набор предназначен для качественного обнаружения методом ИФА антител к тромбоцитарному фактору 4.

Набор предназначен для качественного обнаружения методом ИФА антител, которые участвуют в возникновении ГИТ. Имеется несколько форматов наборов для обнаружения либо IgG/A/M или специфических IgG антител.



# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГИТ

Используются донорские Fc $\gamma$ RIIa-рецепторы тромбоцитов, меченные радиоактивным ( $^{14}\text{C}$ )-серотонином, для выявления активации кровяных пластинок при инкубации с гепаринизированной сывороткой пациента

Требует не менее 6 часов инкубации и длительного (в течение ночи) подсчета радиоактивности

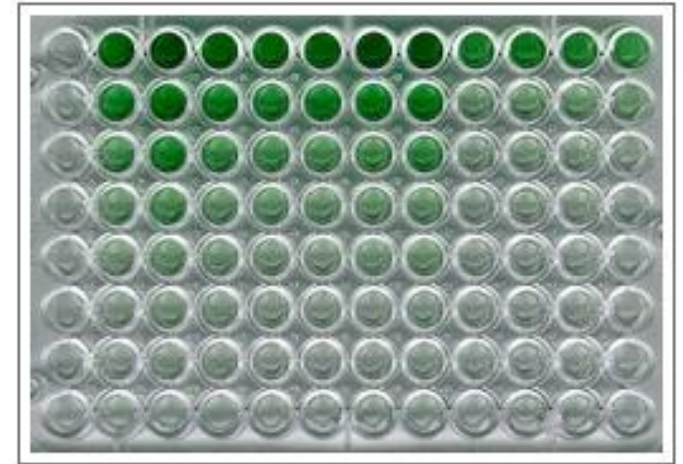
Считается **«ЗОЛОТЫМ СТАНДАРТОМ»** в диагностики ГИТ II

Тест высвобождения серотонина	ИФА	Интерпретация
++	++	ГИТ II определенный
--	--	ГИТ II исключен
++	--	ГИТ II вероятен
--	++	ГИТ II маловероятен

# ELISA-ТЕСТЫ

- ELISA-тест на твердой фазе с анти-ГТФ4-антителами
- ELISA-тест с антигенами к ТФ4-полисульфонату
- Иммуноферментный тест в жидкой фазе
- Тест с использованием частиц геля

Проводят измерение оптической плотности и значения выше 0,41 рассматриваются как наличие антител к гепарину и вероятность развития ГИТ II



**Требуют длительного времени до получения результатов (от 2,5 до 12 часов в зависимости от используемого теста)**

# HemosIL HIT (PF4-H)



## HemosIL HIT-Ab (PF4-H)

- иммунотурбидиметрия
- жидкий, готов к использованию
- результат за минуты



## HemosIL AcuStar HIT-IgG (PF4-H) HemosIL AcuStar HIT-Ab (PF4-H)

- Хемилюминисценция
- Картриджи
- Дифференциация по изотипам

# HemosIL HIT (PF4-H)

**Суть  
метода**

**Время**

**Рабочий  
диапазон**

**Стабильность**

<b>HIT-Ab<sub>(PF4-H)</sub></b>	Все АТ (IgG, IgM, IgA)		13 мин	0 – 5.7 (16) порог 1 Ед/мл	2 мес. (2-8 С) 15 дней (2ч/день)	1 - 4 образцов в неделю
<b>AcuStar HIT- Ab<sub>(PF4-H)</sub></b>	Все АТ		30 мин	0.2 – 128 порог 1 Ед/мл	12 нед.	1 образец каждые 2 недели
<b>AcuStar HIT- IgG<sub>(PF4-H)</sub></b>	IgG			0.13 – 128 порог 1 Ед/мл		

# HemosIL HIT (PF4-H): ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУННЫХ ТЕСТОВ  
ДОЛЖНА СТРОИТЬСЯ ТОЛЬКО СОВМЕСТНО  
С ОЦЕНКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ВЕРОЯТНОСТИ  
РАЗВИТИЯ ГИТ (шкала 4Т)**

**Пороговое значение IgG-антител – 1,0 Е/мл**

**Менее 1,0 Е/мл**

- вероятность ГИТ II низкая, может быть продолжена гепаринотерапия,
- провести функциональные теста для исключения гиперагрегации тромбоцитов на гепарин

**Более 1,0 Е/мл**

- вероятность ГИТ II высокая, изменение антикоагулянтной терапии



# HemosIL HIT (PF4-H)

## ИММУНОТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

### ❑ HemosIL HIT-Ab<sub>(PF4-H)</sub>

- Для большинства лабораторий для исключения диагноза ГИТ

## ХЕМИЛЮМИНИСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

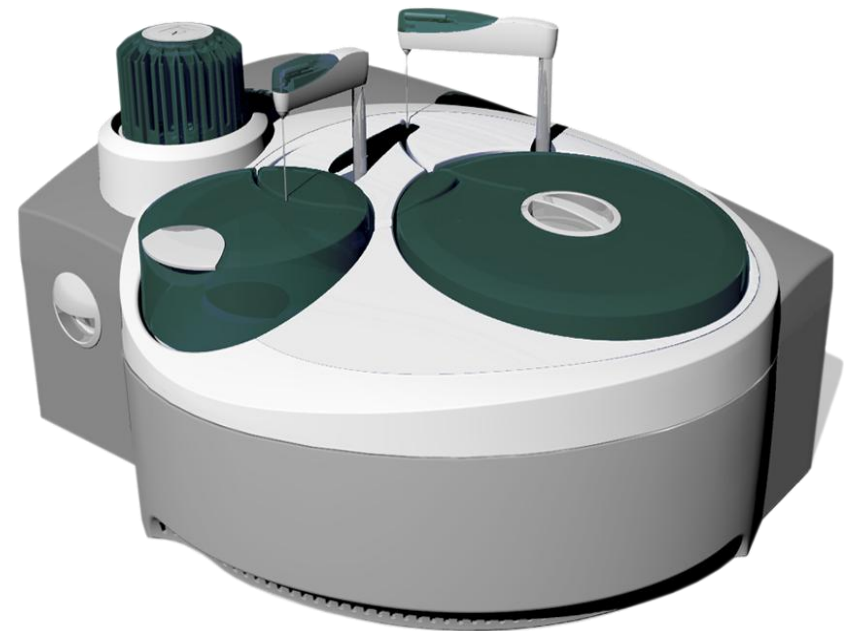
### ❑ HemosIL AcuStar панель тестов ГИТ

- Для специализированных центров

# ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Тест	Диагностические значения
D-димер	500 нг/мл FEU
aCL IgG	20 Е/мл
aCL IgM	20 Е/мл
aB2GPI IgG	20 Е/мл
aB2GPI IgM	20 Е/мл
ГИТ общий	1 Е/мл
ГИТ IgG	1 Е/мл

**ACL** *AcuStar* \*





**МОРОЗОВ Ю.А.**

**БЛАГОДАРЮ  
ЗА  
ВНИМАНИЕ**