СОДЕРЖАНИЕ

1. Тромбофилия. Общие и частные вопросы

А.П. Момот. Проблема тромбофилии в клинической практике // Российский журнал ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ и ОНКОЛОГИИ. – 2015.– № 1. – С. 36-48. 4

А.П. Момот. Эволюция представлений о тромбофилии и ее роли в патологии человека // Проблемы клинической медицины. – 2012.– № 1-4. – С. 10-15. 17

А.П. Момот, И.А. Тараненко, Л.П. Цывкина. Состояние тромботической готовности – возможности современной диагностики и перспективы // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2013. – № 1. – С. 20-23. 21

Л.А. Строзенко, Л.Н. Клименов, Ю.Ф. Лобанов, Г.В. Сердюк, А.П. Момот, М.Л. Филипенко. Врожденные и приобретенные факторы тромбогенного риска у девушек-подростков – жителей Алтайского края // Вестник РУДН, сер. Медицина. Акушерство и гинекология. – 2011. – № 6. - С. 220-225. 25

Л.А. Строзенко, А.П. Момот, Ю.Ф. Лобанов, И.А. Тараненко, Г.В. Сердюк. Факторы тромбогенного риска и состояние здоровья подростков г. Барнаула // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 2. http://www.ngmu.ru/cozo/mos/index.php. 29

Л.А. Строзенко, В.В. Гордеев, Ю.Ф. Лобанов, А.П. Момот, Е.А. Рябинина. Качество жизни подростков – носителей протромботических аллельных полимлорфизмов // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1; режим доступа: www.science-education.ru/115-11938. 32

Г.А. Чумакова, А.П. Момот, А.А. Козаренко, Н.Г. Веселовская. Генетическая предрасположенность к атеротромбозам у пациентов с тяжелой стенокардией // CardioСоматика. – 2010. – № 1. – С. 80-83. 37

И.И. Шахматов, В.М. Вдовин, В.И. Киселёв. Общие закономерности гемостатических реакций на однократные стрессорные воздействия // Гемостазиология. – 2011. – № 2. – С. 61-65. 41

И.И. Шахматов. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза // Фундаментал. исслед. – 2010. – №3. – С. 144-150. 44

И.И. Шахматов, О.В. Алексеева. Влияние многократного воздействия физической нагрузки на систему гемостаза // Фундаментал. исслед. – 2011. – № 10 (часть 1). – С. 181-185. 49

А.Н. Мамаев, А.П. Момот. Нарушения в системе протеина С у больных с антифосфолипидным синдромом // Гемостазиология. – 2012. – № 2. – С. 17-19. 54

В.Г. Лычев, А.В. Андриенко, В.В. Усынин, Д.С. Бубликов, И.В. Лычева. Тромбофилии при ревматоидном артрите: гемореологический аспект, возможности медикаментозной коррекции // Гемостазиология. – 2012. – № 2. – С. 13-16. 56

1.1. Патология гемостаза и проблемы репродукции человека

А.П. Момот, И.А. Тараненко, Л.П. Цывкина. Эволюция представлений о тромбофилии и ее роли в проблемах репродукции человека // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 2. – С. 4-9. 59

А.П. Момот, И.В. Лыдина, О.Г. Борисова, В.А. Елыкомов, Л.П. Цывкина. Экстракорпоральное оплодотворение и управление гемостазом // Проблемы репродукции. – 2012. – № 6. – С. 47-55. 64

А.П. Момот, И.В. Лыдина, В.Ю. Зоренко, О. Г. Борисова, Л.П. Цывкина, И.А. Тараненко Факторы риска неудач экстракорпорального оплодотворения при нарушениях гемостаза и их коррекция // Гематология и трансфузиология. – 2013. – № 2. – С. 18-22. 73

И.В. Лыдина. Опыт использования бемипарина натрия для повышения результативности экстракорпорального оплодотворения // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2012. – № 4 (52). – С. 41-44. 78

А.П. Момот, О.П. Томилина, И.В. Молчанова, В.Г.Шипулина, Л.П. Цывкина, Г.В. Сердюк, О.Г. Борисова, Н.А. Семенова. Роль нарушений гемостаза и фибринолиза, а также их терапевтической коррекции, в исходах ЭКО и ранних репродуктивных потерях // Проблемы репродукции. – 2014. – № 4. – С. 58-61 82

А.П. Момот, П.А. Кирющенков, Д.А. Трухина, И.А. Тараненко, О.П. Томилина, М.В. Пыхтеева, Н.И. Фадеева, Л.П. Цывкина, Г.В. Сердюк, Д.Е. Белозеров, В.В. Романов. Референтные значения уровня и активности фактора Виллебранда, металлопротеиназы ADAMTS-13, активности тромбоцитов при физиологически протекающей беременности // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 2. – С. 46-52. 86

А.П. Момот, И.А. Тараненко, Д.Е. Белозеров, Л.П. Цывкина, Н.И. Фадеева, М.В. Медведева Инициация свертывания крови в разные сроки физиологически протекающей беременности // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – ТОМ 34, № 5. – С. 58-66. 92

А.П. Момот, И.А. Тараненко, Л.П. Цывкина, Н.И. Фадеева, Г.В. Сердюк, И.Ю. Кудинова, М.В. Медведева. Фибринолитическая активность крови на разных сроках физиологически протекающей беременности // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2014. – № 2. – С. 20-25. 99

А.П. Момот, Д.Е. Белозеров, Л.П. Цывкина, А.А. Тугов. Референтные значения уровня Д-димеров в плазме крови в разные сроки физиологически протекающей беременности. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (г. Санкт-Петербург, 24-25 июня 2014 104

г.) // Вестник гематологии. – 2014. – Том X, № 2. – С. 112-114.
А.П. Момот, И.В. Молчанова, Т.А. Батрак, Д.Е. Белозеров, Д.А. Трухина, И.Ю. Кудинова, Н.В. Максимова, Н.И. Фадеева, Г.В. Сердюк, В.В. Романов. Референтные значения показателейсистемы гемостаза при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения // Проблемы репродукции. – 2015. – № 1. – С. 89-97. 106

1.2. Патология гемостаза и эндопротезирование крупных суставов

А.П. Момот, Е.В. Григорьева, М.Ю. Панов, И.А. Тараненко, И.В. Меркулов, Л.П. Цывкина. Предикторы венозного тромбоза при медикаментозной тромбопрофилактике в ортопедии // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 2. http://www.ngmu.ru/cozo/mos/index.php. 114

А.П. Момот, Е.В. Григорьева, Л.П. Цывкина, М.Ю. Панов, И.В. Меркулов. Мониторинг использования дабигатрана в качестве средства профилактики тромбоэмболических осложнений после артропластики тазобедренного сустава // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 5. – С.40-42. 118

А.П. Момот, И.В. Меркулова, Е.В. Григорьева, М.Ю. Панов. Тромбопрофилактика эноксапарином и дабигатраном после эндопротезирования тазобедренного сустава // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2011. – № 2. – С. 67-70. 121

2. Мезенхимальные дисплазии и репродуктивное здоровье женщин

Е.Г. Кудинова, И.В. Лыдина, И.А. Тараненко, В.А. Елыкомов, А.П. Момот. Предикторы риска тромботических и акушерских осложнений у беременных с мезенхимальной дисплазией // Проблемы клинической медицины. – 2012.– № 1-4. – С. 117-123. 125

Е.В. Уварова, Е.Г. Кудинова, А.П. Момот. Характеристика течения ранних сроков беременности у молодых женщин с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2010. – № 3. – С. 83-90. 131

Е.Г. Кудинова, А.П. Момот, Е.В. Уварова. Современные подходы к профилактике расстройств репродуктивной системы у девочек-подростков и женщин с наследственными нарушениями соединительной ткани и факторами геморрагического или тромбогенного риска // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2014. – № 4. – С. 49-53. 137

Е.Г. Кудинова, А.П, Момот. Изменения в системе гемостаза у пациенток с наследственными нарушениями соединительной ткани в ранние сроки беременности // Акушерство и гинекология. – 2014. – №8. – С. 106-111. 141

3. Антитромботическая терапия

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, Л.П. Цывкина. Современные подходы к антикоагулянтной терапии // Проблемы клинической медицины. – 2009. – № 3. – С. 94-98. 146

Н.Г. Хорев, А.П. Момот, Д.А. Залозный. Новые оральные антикоагулянты // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – № 4. – С. 31-47. 151

Н.Г. Хорев, А.П. Момот, Д.А. Залозный, Я.Н. Шойхет. Персонализация антитромбоцитарной терапии при резистентности к клопидогрелю // Проблемы клинической медицины. – 2012. – № 1-4. – С. 134-139. 165

Н.Г. Хорев, А.П. Момот, М.В. Боярков, С.В. Зайцев. Осложнения имплантации устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии // Гемостазиология. – 2011. – № 1. – С. 34-38. 169

Н.Г. Хорев, Я.Н. Шойхет, А.П. Момот. Тромболитическая терапия тромбоэмболии легочной артерии // Проблемы клинической медицины. – 2014. – № 1-2 (33). –С.58-64. 173

4. ДВС-синдром

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот. Дефиниция в учении о синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Проблемы клинической медицины. – 2009. – № 1. – С. 104-108. 178

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций о формировании очагов гнойной деструкции органов тканей // Проблемы клинической медицины. – 2008. – № 4. – С. 102-117. 183

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, С.Ю. Капитулин, И.А. Карбышев. Связь гемостатических реакций и воспаления у больных острой эмпиемой плевры // Проблемы клинической медицины. – 2012. – № 1-4. – С. 49-64. 198

Е.С. Казанцева, Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, С.Д. Фокеев. Особенности свертывания крови и белоксинтетической функции печени при формировании острого холангита опухолевого генеза панкреатодуоденальной зоны // Российский онкологический журнал. – 2014. – № 1. – С. 44-47. 213

Т.И. Мартыненко, А.П. Момот, И.В. Балацкая, Я.Н. Шойхет, А.А. Гребенюк, О.В. Русакова, С.Ю. Капитулин. Особенности генерации тромбина и прогноз неблагоприятного исхода у больных тяжелой пневмонией с пневмогенным сепсисом // Клиническая медицина. – 2014. – Т. 92. – № 6. – С. 41-46. 217

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, С.Ю. Капитулин, И.В. Балацкая, Т.И. Мартыненко, И.А. Карбышев, Е.С. Казанцева. Сепсис. Связь реакций гемостаза и воспаления в интра- и периваскулярном пространстве // Проблемы клинической медицины. – 2014. – № 1-2 (33). – С. 17-28. 222

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, В.А. Елыкомов. К оценке новой технологии негепаринового усиления антикоагулянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемокомпонентной терапии ДВС-синдрома // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2009. – № 2. – С. 1-20. 233

А.П. Момот, Я.Н. Шойхет, И.В. Молчанова, Л.П. Цывкина. Управление гемостазом при критических состояниях. Аргументы за и против фармакологического подавления фибрино- 250

лиза в профилактике и купировании массивных кровотечений // Проблемы клинической медицины. – 2011. – № 3-4. – С. 98-104.
А.П. Момот, И.В. Молчанова, В.Б. Цхай. Новые фармакологические возможности купирования массивных акушерских кровотечений // Гематол. и трансфузиол. – 2010. – № 1. – С. 3-11. 255

5. Вопросы гемотрансфузионной терапии и применения местных гемостатических препаратов

В.Г. Лубянский, А.П. Момот, А.Н. Жариков. Трансфузионная гемокоррекция на этапах хирургического лечения больных с послеоперационным перитонитом // Анналы хирургии. – 2011. – № 6. – С. 50-56. 262

В.Г. Лубянский, А.Н. Жариков, А.П. Момот, Г.А. Арутюнян. Экспериментальная технология герметизации тонкокишечного анастомоза при послеоперационном перитоните препаратами крови, образующими фибрин // Медицина и образование в Сибири. – 2013. – № 1. http://www.ngmu.ru/cozo/mos/index.php. 268

6. Дефицит факторов свертывания крови и проблемы кровоточивости

А.Н. Мамаев, О.В. Ефремова, А.П. Момот, Г.И. Костюченко, Е.В. Григорьева, Л.П. Цывкина , Ю.В. Яковенко, М.В. Косинова. Синдром Виллебранда. Клинический случай без снижения отношения VWF:RCo/ VWF:Ag у пациентки с хроническим миелолейкозом // Гемостазиология. – 2011. – № 2. – С. 88-92. 274

А.Н. Мамаев, А.П. Момот, В.А. Елыкомов, Л.И. Морозова, Е.В. Григорьева, О.В. Ефремова, И.Е. Бабушкин. Опыт применения концентрата фактора Виллебранда «Вилате» у пациентки с тяжелой формой болезни Виллебранда (субтип 2N) // Гемостазиология. – 2011. – № 2. – С. 85-87. 278

А.П. Момот, Н.В. Сидор. Современные представления о структуре и функции фактора XIII // Гемостазиология. – 2012. – № 2. – С. 45-70. 281

А.Н. Мамаев, А.К. Желябовский, П.В. Свирин, Л.Р. Сарап, К.П.Фёдоров. Определение анамнестического индекса кровоточивости // Гемостазиология. – 2011. – № 1. – С. 46-53. 296

7. Методология исследования системы гемостаза

А.Н. Мамаев, А.Ж. Гильманов, Т.В. Вавилова, А.П. Момот. Особенности преаналитического этапа исследования системы гемостаза // Гемостазиология. – 2011. – № 1. – С. 54-59. 304

Н.В. Бедило, Н.А. Воробьева. Сравнительная характеристика методов оценки тромбинемии у пациентов с внебольничной пневмонией // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 2. – С. 64-70. 309

А.П. Момот, А.Г. Золовкина, А.Н. Мамаев. Результаты апробации новой тест-системы для определения концентрации фибриногена модифицированным методом Клаусса // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2013. – № 1. – С. 54-56. 315

А.П. Момот, А.Г. Золовкина, Е.В. Григорьева, И.А. Тараненко. Мониторирование гепаринотерапии в клинической практике // Поликлиника. – 2014. – №1 (3). Спецвыпуск. – 2014. – № 4. – С. 61-65. 318

А.П. Момот, Е.В. Григорьева, И.А. Тараненко, А.Н. Мамаев. Опыт мониторирования эффектов непрямых антикоагулянтов при использовании различных тромбопластиновых реагентов // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2014. – № 4. – С. 26-28. 321

Все статьи, вошедшие в сборник, предоставлены авторами.

Проблема тромбофилии в клинической практике

А. П. Момот
Алтайский филиал ФГБУ«Гематологический научный центр» Минздрава России;
Россия, 656024, Алтайский край, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1;
ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России;
Россия, 656038, Алтайский край, Барнаул, просп. Ленина, 40
Контакты: *Андрей Павлович Момот xyzan@yandex.ru*

В лекции приводятся новые взгляды на тромбофилию, факторы тромбогенного риска и состояние тромботической готовности, предшествующие и сопутствующие критической сосудистой ишемии. Определена роль этих понятий в объяснении возникновения артериальных и венозных тромбозов. Отмечены современные лабораторные методы оценки факторов тромбогенного риска и состояния тромботической готовности, позволяющие определить необходимость начала тромбопрофилактики.

Ключевые слова: *система гемостаза, тромбофилия, факторы тромбогенного риска, состояние тромботической готовности*

DOI: 10.17650/2311-1267-2015-1-36-48

The problem of thrombophilia in clinical practice

A.P. Momot

Altai Branch Hematological Research Center, Ministry of Health of Russia; 1 Lyapidevskogo St., Barnaul, Altai Region, 656024, Russia; Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia; 40 Lenina Prosp., Barnaul, Altai Region, 656038, Russia

In the lecture new perspectives are given on thrombophilia, thrombogenic risk factors and the state of thrombotic readiness preceding and accompanying critical vascular ischemia. The role of these concepts is defined by explaining the occurrence of arterial and venous thrombosis. Modern laboratory methods for the assessment of thrombogenic risk factors and thrombotic state of readiness, which help to determine the need to start thromboprophylaxis, are canceled.

Key words: *hemostatic system, thrombophilia, thrombogenic risk factors, thrombotic state of readiness*

Развитие современной гемостазиологии в направлении выявления, диагностики, диспансеризации и этапного лечения больных тромбофилиями — одна из наиболее актуальных задач медицины XXI века.
Проф. З.С. Баркаган

Введение

В мире наблюдается рост сердечно-сосудистых заболеваний, связанный не только с увеличением продолжительности жизни, но и с неблагоприятным «генетическим грузом», а также влиянием внешней среды. При этом атеротромбоз, как наиболее грозное осложнение атеросклероза, является причиной смертности почти в 30 % случаев. Известно, что морфологическим субстратом большинства артериальных катастроф является поврежденная (нестабильная) атеросклеротическая бляшка с тромбозом просвета артерии. Не менее актуальны для современной медицины и вопросы, связанные с профилактикой, диагностикой и лечением острых нарушений мозгового кровообращения. В России инсульт занимает 2-е место в структуре общей смертности населения. Примерно 20 % больных, перенесших инсульт, становятся тяжелыми инвалидами и нуждаются в посторонней помощи. Причем среди всех видов инсульта преобладают ишемические (тромботические) поражения мозга в связи с тромбозом церебральных артерий либо системной (кардиогенной) эмболией.

Венозный тромбоэмболизм (венозный тромбоз и легочная эмболия) является не менее важной проблемой современной медицины, значение которой в практике врачей различных специальностей трудно переоценить. Это весьма распространенная патология: в США, например, с венозными тромбозами и/или тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) связано от 300 до 600 тыс. госпитализаций ежегодно; частота фатальной ТЭЛА составляет 94:100000, или 240 тыс. смертей в год. Варианты венозной окклюзии возникают примерно в 2 случаях на 1000 человек в год, кроме того, от 5 до 15 % больных с нелеченным тромбозом

глубоких вен (ТГВ) умирают от ТЭЛА. В Российской Федерации от легочной эмболии ежегодно погибают до 100 тыс. человек. Фактически ТЭЛА как сосудистая катастрофа, причиной которой является тромбоз магистральных вен нижних конечностей и таза с отрывом тромба с места его формирования, представляет собой одно из наиболее частых и грозных осложнений у больных, перенесших различные хирургические и иные инвазивные вмешательства. Около четверти пациентов с ТЭЛА ожидает внезапная смерть.

Не менее значима связь склонности к тромбообразованию с тромбозами у беременных и синдромом потери плода. ТЭЛА считается самой частой предотвратимой причиной материнской смертности и госпитальной летальности в экономически развитых странах. Беременность и послеродовой период — установленные состояния так называемой гиперкоагуляции, связанной с увеличенными уровнями прокоагулянтных факторов (фибриногена, факторов V и VIII), уменьшенной антикоагулянтной активностью (снижен уровень протеина S и повышена резистентность фактора Va к активированному протеину C) и угнетением фибринолитической активности крови. В этот период жизни женщины риск ТГВ и ТЭЛА увеличен пятикратно по сравнению с небеременными женщинами того же возраста. Последнее является одной из ведущих причин смерти во время вынашивания плода и при родоразрешении. С другой стороны, женщины с тромботическим анамнезом имеют повышенный риск преэклампсии, так же как выкидыша и рождения мертвого ребенка из-за образования тромбов в плаценте, пуповине или в сосудах у плода.

Помимо снижения выживаемости венозный тромбоэмболизм и сопутствующий ему посттромботический синдром значительно снижают качество жизни. Риск его развития увеличивается в 17 раз после перенесенного тромбоза вен. При этом 20-летняя кумулятивная частота возникновения постромботического синдрома после проксимального ТГВ составляет около 40 %.

Предрасположенность к избыточному тромбообразованию прослеживается у многих существ. К примеру, представители распространенной группы современных рептилий — подотряда ящериц *(Lacertilia)* — обладают способностью к непроизвольной потере хвоста при резком сокращении мышц в случае внешней опасности. И он вскоре формируется заново, полностью восстанавливаясь. При этом род продолжают те особи, у которых кровотечение было минимальным. В результате у современных представителей этих животных сформировалась повышенная способность к выживанию при нанесении серьезной травмы.

Другой пример естественного отбора, обусловленный повышением тромбогенности крови, связывается с мутацией фактора V Лейден, возникшей у представителей *Homo sapiens* примерно 20 000—30 000 лет назад. При этой мутации фактор коагуляции Va приобретает резистентность к ингибирующему действию активированного протеина C, чем сдвигает гемостатическое равновесие в сторону повышения свертывания крови. Данная мутация обнаруживается у 2—15 % лиц европеоидной расы, тогда как у коренных жителей Америки, Азии и Африки она практически не встречается. Гетерозиготное носительство генотипа фактора V 1691GA (G→A) сопряжено с увеличением риска развития венозного тромбоза в 3—8 раз, тогда как у гомозиготных носителей (редкий аллель A→A) этот показатель достигает 20—80. В ранней истории человеческой популяции мутации в гене фактора V давали в эволюционном смысле известные преимущества, поскольку они препятствовали опасной для жизни кровопотере при травмах и борьбе с хищниками и представителями своего рода в молодом по современным меркам возрасте. Тем не менее это приспособление играет уже резко отрицательную роль по достижении более зрелого возраста человека или при наступлении беременности. При старении носительство мутации фактора V Лейден, наряду с хроническими заболеваниями и гиподинамией, онкологической патологией, обуславливает повышенную склонность к возникновению ишемических сосудистых катастроф. Вынашивание же беременности само по себе ассоциируется с прогрессирующей во времени тромбогенностью. Последнее свойство биологически целесообразно в целях снижения кровопотери в родах, однако носительство мутации фактора V Лейден усиливает склонность к тромбозам и закономерно ведет к многочисленным осложнениям беременности (отслойке плаценты, фетоплацентарной недостаточности, антенатальной гибели плода, преэклампсии, преждевременным родам и др.).

Классическое понимание тромбофилии

Учитывая уникальную значимость для жизни пациентов тромбозов артериального или венозного русла, усилия многих исследователей были направлены не только на совершенствование методов диагностики и лечения сосудистых ишемий (что весьма важно!), но и на их опережающую профилактику, прежде всего предупреждение повторных сосудистых эпизодов. Для этого было важно отследить те или иные причины и условия, при которых чаще всего возникали и повторялись тромбозы различной локализации.

Тромбоопасность по результатам многочисленных описаний стали связывать с травмами и хирургическими манипуляциями в области крупных венозных магистралей (операции на тазобедренном суставе, органах малого таза), другими фоновыми видами патологии и состояниями, предрасполагающими к тромбозу вен (злокачественные опухоли, ожирение, сахарный диабет, сердечная недостаточность (СН), длительная иммобилизация и т.д.),

которые сопровождались активацией свертывания крови. Еще в 1884 г. Рудольф Вирхов выдвинул утверждение, согласно которому венозный тромбоз является результатом наличия хотя бы 1 из 3 базовых факторов, включающих в себя: 1) стаз крови в венах нижних конечностей, 2) повышенную способность крови к тромбообразованию и 3) повреждение стенки сосудов. Определено, что все факторы риска венозного тромбоза реализуются этими важными патофизиологическими процессами и что тромбозы и тромбоэмболии обычно при их отсутствии не развиваются. В 1995 г., через 30 лет после появления сообщения O. Egeberg (1965) о наследственном дефиците антитромбина III, Всемирная организация здравоохранения и Международное общество по тромбозу и гемостазу (ISTH) ввели понятие «тромбофилии» как состояния с необычной склонностью к тромбозам с ранним возрастным началом, отягощенным семейным анамнезом, степени тяжести тромбоза непропорциональной известному причинному фактору и наличием рецидивов тромбоза. При этом акценты были сделаны на врожденные виды тромбофилии, связанные с глубоким дефицитом антитромбина III, мутацией фактора V Лейден, мутацией протромбина (G20210A), снижением уровней протеинов C и S. В то же время единственной приобретенной формой тромбофилии было признано носительство антифосфолипидных антител (АФА) при антифосфолипидном синдроме (АФС), связанных как с артериальным, так и с венозным тромбозами, а также с синдромом потери плода.

Отечественным исследователем в этой области проф. З.С. Баркаганом (в публикациях 1996—2005 гг.) под тромбофилией предложено понимать не только приведенные выше причины, но и все наследственные (генетически обусловленные) и приобретенные (вторичные, симптоматические) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов. Особое значение в предложенной этим автором классификации придавалось состояниям при обменных заболеваниях — диабете, ожирении, при аутоиммунных и инфекционно-иммунных заболеваниях — иммунных тромбоваскулитах, сепсисе и т. д., а также медикаментозным воздействиям — ятрогенным формам тромбофилии.

Далее, в июне 2008 г., опубликована версия практических клинических рекомендаций Американской коллегии торакальных врачей по антитромботической и тромболитической терапии (ACCP) которая определила тромбофилию как наличие одного или более следующих признаков, в число которых вошли дефицит антитромбина III, протеинов C или S, АПС-резистентность (резистентность фактора Va к инактивирующему действию протеина C), мутация фактора V Лейден, мутация протромбина (G20210A), гипергомоцистеинемия, гомозиготное носительство термолабильного варианта метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), присутствие АФА (волчаночного антикоагулянта, антител к β_2-гликопротеину I или антикардиолипиновых антител), увеличение активности фактора VIII, сниженный уровень протеина Z.

В 2013 г. J. Heit в руководстве “Consultative Hemostasis and Thrombosis” привел следующую классификацию тромбофилии (или признаков, ассоциированных с ней), включающих как те или иные нарушения в системе гемостаза, так и большое число патологических состояний, а также последствий медикаментозного лечения (табл. 1).

Интересно, что в этот список попали беременность и послеродовой период, а также ДВС-синдром. Отталкиваясь от данной классификации, можно определять тромбофилию как состояние, свойственное всем беременным женщинам, что, однако, противоречит многочисленным публикациям на эту тему. Неоднозначна и клиническая целесообразность включения ДВС-синдрома в список тромбофилий, поскольку тромбофилия ассоциируется с тромбообразованием в достаточно крупных сосудах (артериях и венах), а проявления ДВС- синдрома связаны, в подавляющем большинстве случаев, с микротромбозами капиллярного русла и блокадой микроциркуляции в органах-мишенях (почках, легких, мозге, кишечнике и др.).

Тем не менее можно отметить, что это далеко не полный перечень видов патологии и ситуаций, связанных с артериальными и венозными тромбозами, выделяются и другие причины. В частности, к вероятным причинам артериального тромбоза сегодня относят:

- кардиоэмболизм (при фибрилляции предсердий, аневризме левого желудочка или межпредсердной перегородки, эндокардите, дефекте межпредсердной перегородки или открытом овальном окне, кардиальной опухоли);
- эмболию от артерии к артерии/artery-to-artery embolism (вследствие опухолевых или инфекционных процессов);
- расслоение стенки артерии;
- фиброзно-мышечную дисплазию (сонная и почечная артерия);
- кистозное адвентициальное заболевание;
- аневризматическое заболевание артерии с тромбозом *in situ*;
- травму, в том числе термическую (ожоги и обморожения);
- ущемление артерии (например, ущемление подколенной артерии, общее бедренное защемление в паховой связке);
- васкулит (первичный или вторичный);
- облитерирующий тромбангиит;
- инфекцию стенки артерии;
- ангиоспазм;

Таблица 1. *Классификация тромбофилии*

Врожденные (семейные или первичные) тромбофилии	
Дефицит антитромбина III Дефицит протеина С Дефицит протеина S АПС-резистентность Мутация фактора V Лейден Мутация протромбина (20210A) Гомоцистинурия, гипергомоцистеинемия в связи с дефектом ферментов, участвующих в метаболизме метионина	Безусловно подтвержденные данные
Стойкое увеличение концентрации и/или активности факторов свертывания крови: фибриногена, факторов II, VIII, IX или XI Дисфибриногенемия Гипоплазминогенемия и дисплазминогенемия Серповидно-клеточная анемия	Подтвержденные данные
Снижение уровня витамин К-зависимого белка Z и Z-зависимого ингибитора Снижение уровня ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) Дефицит тканевого активатора плазминогена (t-PA) Высокий уровень ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1)	Слабые подтвержденные данные
Полиморфизм фактора XIII (Val34Leu) Повышенный уровень активированного тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI)	Нет подтверждающих данных
Приобретенная или вторичная тромбофилия	
Активный рак (включая миелопролиферативные и миелодиспластические заболевания) Наличие АФА в диагностическом титре (волчаночный антикоагулянт, антикардиолипиновые антитела, антитела к анти-p_2-гликопротеину I) Аутоиммунные нарушения (синдром Бехчета, глютеиновая болезнь, иммунновоспалительное заболевание кишечника, первичная иммунная тромбоцитопения, тяжелая миастения, ревматическая полимиалгия, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, облитерирующий тромбангиит (болезнь Бюргера), системный склероз, тиреоидит, геморрагический микротромбоваскулит (болезнь Шенлейна—Геноха), гранулематоз Вегенера) Гепарин-индуцированная тромбоцитопения Ночная пароксизмальная гемоглобинурия Инфекция (пневмония, сепсис, инфекция мочевых путей, ВИЧ-инфекция) Гипергомоцистеинемия Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура Дислипидемия, ожирение Микроальбуминурия, нефротический синдром и вероятная хроническая почечная недостаточность Обезвоживание Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) Беременность, послеродовой период Химиотерапия при лечении злокачественных новообразований (прием L-аспарагиназы, антиангиогенная терапия, цитотоксическая и иммуносупрессивная терапия, применение эритропоэтина, иммуномоделирующая терапия) Терапия эстрогенами или прогестероном Прием селективных модуляторов рецепторов эстрогена (тамоксифена и ралоксифена)	

- сосудистую опухоль;
- аномалии сосудов (в том числе повышенную извитость сонных артерий, наличие артериовенозных шунтов);
- АФС (с вторичной АПС-резистентностью);
- синдром сгущения крови;
- выработку холодовых агглютининов;
- криоглобулинемию;
- ряд вредных привычек (табакокурение, употребление наркотиков).

В число факторов риска венозных тромбозов включают также факт госпитализации, особенности операции (длительность, травматизм и вид используемого наркоза) и малую подвижность при неврологических заболеваниях (табл. 2).

К этому следует добавить и такие факторы риска, как возраст, семейный и индивидуальный тромботический анамнез, принадлежность к мужскому полу, наличие не «0» группы крови, подключение венозного доступа, физический и психологический дистресс и ряд других.

Современная медицинская практика в России в учете всех этих состояний редуцирована и ориентируется на распознавание тромбофилии прежде всего по определению носительства тромбогенных мутаций и полиморфизмов, а также АФА после проведения соответствующего генетического и иммунологического обследования. В числе случаев тромбофилии помимо обозначенных выше мутаций фактора V Лейден и протромбина (20210A) рассматривается и носительство ряда полиморфизмов генов белков (генов-кандидатов), участвующих в реакциях системы гемостаза — фибриногена, рецепторов тромбоцитов (GPIIIa и др.) и ферментов, ответственных за метаболизм метионина (МТГФР, метионин синтетазы — MTR и др.).

Избранные

Таблица 2. *Независимые факторы риска ТГВ и ТЭЛА*

Факторы риска	Относительный риск	95 % доверительный интервал
Увеличение индекса массы тела на 10 кг/м^2	1,08	1,05-1,11
Полостные операции	18,95	9,22-38,97
Госпитализация в стационар в связи с неотложным состоянием	5,07	3,12-8,23
Травма или перелом	4,56	2,46-8,46
Активная форма рака	14,64	7,73-27,73
Неврологическое заболевание со значительным снижением подвижности	6,10	1,97-18,89
Беременность или послеродовой период	4,24	1,30-13,84
Применение эстрогенсодержащих контрацептивов	4,03	1,83-8,89
Заместительная гормональная терапия у женщин	1,81	1,06-3,09

Примечание. *Данные взяты из работ J. Heit et al. (2000) и M. Barsoum et al. (2010).*

Многие клиницисты отрицают значимость генетической предрасположенности в развитии тромбоза, что аргументируется не всегда видимой связью между этими явлениями. Действительно, прямая ассоциация может быть сомнительной, о чем свидетельствует ряд публикаций, в том числе ретроспективное когортное семейное исследование с привлечением 723 родственников I и II степени для 150 пациентов с венозными тромбозами (I. Martinelli et al., 1998). Собранные в этом исследовании данные представляют интересную информацию о величине тромботического риска у лиц с врожденными дефектами в системе физиологических антикоагулянтов, проявляемость которых сравнительно невелика. Так, кумулятивная пожизненная вероятность возникновения тромбоза (пенетрантность) среди носителей наиболее часто встречающейся семейной тромбофилии (мутации фактора V Лейден) составляет лишь около 10 %.

Действительно, мутация фактора V Лейден необязательно проявляется тромбинемией и/или повышением уровня D-димеров, полиморфизм генов, участвующих в обмене метионина, — гипергомоцистеинемией, а редкая гомозигота гена *PAI I* - повышением активности PAI-1 и угнетением фибринолитических реакций. Можно ожидать высокой вероятности этих событий, но когда и в какой мере не поддается прогнозу. Очевидно и то, что реализация отмеченных генотипов в фенотипические (клинические) проявления зависит от дополнительных факторов риска, например обезвоживания или дистресса. В связи с этим существует точка зрения, что тромбоз является многофакторным (комплексным) заболеванием, которое проявляется, когда человек с идентифицированной тромбофилией подвергается воздействию дополнительных факторов риска, связанных с болезнью или обусловленных внешней средой.

Так, в соответствии с имеющимися в литературе данными, риск венозных тромбоэмболических осложнений (ВТО) среди носителей мутации фактора V Лейден увеличивается с возрастом; большинство случаев происходит в возрасте старше 50—55 лет. У гомозиготных носителей мутации фактора V Лейден этот риск может быть еще выше под воздействием окружающей среды или других генетических факторов риска. Пенетрантность фенотипа тромбоза увеличивается среди пациентов с многочисленными генетическими дефектами (например, при сопутствующем дефиците антитромбина III, протеинов С или S). Этот же показатель зависит от воздействия приобретенных факторов риска, таких как применение комбинированных оральных контрацептивов, беременность или оперативное вмешательство. В частности, относительный риск ВТО среди гетерозиготных носителей мутации фактора V Лейден, принимающих эстрогенсодержащие противозачаточные препараты, увеличивается в 30 раз.

При всей этой важной и интересной информации неясно — в чем же заключается различие между факторами тромбогенного риска и собственно тромбофилией? И как часто можно и нужно диагностировать тромбофилию? При выяснении этих вопросов можно обратить внимание на определение клинической значимости тех или иных факторов риска, предрасполагающих к ВТО в соответствии с недавними рекомендациями Европейского общества кардиологов (ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism, 2014) (табл. 3).

Достаточно сравнить данные табл. 1 и 3, чтобы увидеть существующие противоречия в обсуждаемой области медицинских знаний.

Как отмечалось выше, часто наличие у пациента тромбофилии отождествляется лишь с носительством того или иного известного врожденного фактора (или факторов) тромбогенного риска. Для оценки такой практики сотрудники Алтайского филиала Гематологического научного центра Минздрава России и Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России совместно с лабораторией фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН провели клинико-генетические исследования в 2010—2013 гг. в случайной выборке у 1306 подростков в возрасте 15—16 лет без явных признаков патологии. В результате носительство хотя бы 1 из 4 наиболее известных тромбогенных мутации или полиморфизма (фактор V Лейден (1691), FII (20210), PAI-1 (—675) и МТГФР) было установлено в 91,8 % случаев (табл. 4). Однако невозможно согласиться с тем, что все эти люди «страдают» тромбофилией и их необходимо лечить и наблюдать.

Полученные данные имеют безусловную ценность, особенно в части выявления мутации фактора V Лейден и мутации протромбина (20210A) у отдельных подростков,

Таблица 3. *Градация факторов риска развития тромбоэмболических осложнений у кардиологических больных*

№	Степень значимости	Условия, способствующие тромбоэмболизму
1.	Значимые факторы риска (ОШ > 10)	Отрыв тромба; первые 3 мес после госпитализации по поводу СН/ФП; протезирование нижних конечностей, крупная травма; первые 3 мес после ИМ; предшествующие ВТО
2.	Умеренные факторы риска (ОШ = 2-9)	Артроскопическая хирургия; аутоиммунные болезни; гемотрансфузии; химиотерапия; застойная СН/ЛСН; ГЗТ; злокачественные опухоли; оральные контрацептивы; ***тромбофилия*****;** инсульты в анамнезе
3.	Слабые факторы риска (ОШ < 2)	Постельный режим > 3 дней; сахарный диабет; артериальная гипертензия; длительные путешествия; возраст; лапароскопическая хирургия; ожирение; беременность; варикозная болезнь

Примечание. *ОШ — отношение шансов, ФП — фибрилляция предсердий, ИМ — инфаркт миокарда, ЛСН — легочно-сердечная недостаточность, ГЗТ — гормонозаместительная терапия.*

однако они всего лишь устанавливают факт наличия той или иной врожденной предрасположенности и их недостаточно для расчета абсолютного риска тромбоза в конкретном случае, без учета других, дополнительных факторов риска, например возраста. В этом отношении интересны результаты дополнительного исследования, проведенного в 3 поколениях кровных родственников в семьях подростков — носителей мутации фактора V Лейден и протромбина (20210A), отобранных в группу высокого тромбогенного риска (рис. 1).

Показано, что частота встречаемости в таких семьях гетерозиготного варианта мутации фактора V Лейден и протромбина прогрессивно снижается от младшего к более старшим поколениям. Та же закономерность обнаружена и в отношении носительства редкой гомозиготы гена *МТГФР* (677 C/T), которая на момент обследования в 11,7 % случаев сопровождалась повышением уровня гомоцистеина в сыворотке крови сверх возрастной нормы. Что интересно, наличие редкого аллеля PAI-1 (-675) 4G/4G было примерно одинаково вне зависимости от возраста — соответственно 48,3; 36,8 и 40 %. Резкое снижение встречаемости мутации фактора V Лейден и протромбина, редкой аллели гена *МТГФР* (677 TT) у пожилых людей мы связали со сравнительно большим числом фатальных сосудистых ишемий у представителей старшего поколения.

При изучении и оценке любых многокомпонентных и взаимосвязанных систем решающее значение имеет общее понимание терминологии (дефиниция), прежде всего в познании процессов, происходящих в организме и описываемых исследователем. В приложении к проблемам нарушений в системе гемостаза дефиниция имеет относительный характер, поскольку эта область медицинских знаний находится в ходе интенсивного развития, в то время как многие термины и понятия, такие как «агрегатное состояние крови», «внешний и внутренний механизмы свертывания крови», «коагулопатия потребления», «атромбия», «псевдогемофилия», «непрямые антикоагулянты» и др., еще использующиеся в литературе, глубоко историчны и не отвечают современным представлениям о механизмах развития и средствах коррекции гемостатических событий. В связи с этим особо актуальной становится неоднозначность трактовки терминов «тромбофилия», «факторы тромбогенного риска» и «гиперкоагуляционный синдром или состояние». Наиболее частое заблуждение среди клиницистов сегодня — замена понятия «фактор тромбогенного риска» на понятие «тромбофилия».

Таблица 4. *Распределение частот генотипов генов факторов свертывания крови и генов фолатного метаболизма у подростков г. Барнаула Алтайского края*

Ген	Генотип	Встречаемость, *n* (%)
FII (коагуляционный фактор II) (G/A)	20210 GG 20210 GA 20210 AA	1271 (97,3) 35 (2,7) 0 (0,0)
FV (коагуляционный фактор V, мутация фактора V Лейден) (G/A)	1691 GG 1691 GA 1691 AA	1264 (96,8) 42 (3,2) 0 (0,0)
FGB (фибриноген) (G/A)	(-455) GG (-455) GA (-455) AA	149 (62,3) 75 (31,4) 15 (6,3)
PAI-1 (5G/4G)	(-675) 5G5G (-675) 4G5G (-675) 4G4G	269 (20,6) 602 (46,1) 435 (33,3)
GPIIIa (гликопротеин IIIa тромбоцитов) (T/C)	1565 TT 1565 TC 1565 CC	352 (78,7) 90 (20,2) 5 (1,1)
МТГФР (C/T)	677 CC 677 CT 677 TT	659 (50,5) 529 (40,5) 118 (9,0)
МТГФР (A/C)	1298 AA 1298 AC 1298 CC	224 (50,8) 174 (39,5) 43 (9,7)
MTR (B_{12}-зависимая) (A/G)	2756 AA 2756 AG 2756 GG	274 (67,7) 92 (22,7) 39 (9,6)
MTRR (метионин синтетаза редуктаза) (A/G)	66 AA 66 AG 66 GG	121 (27,9) 131 (30,3) 181 (41,8)

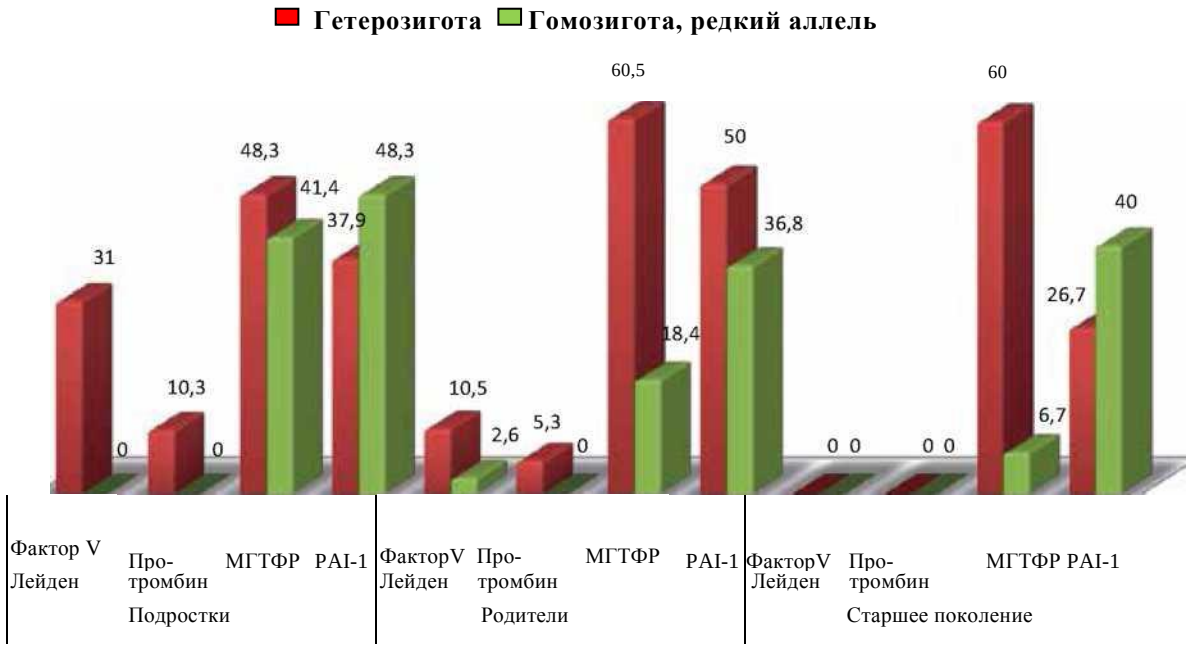


Рис. 1. *Распределение мутаций и полиморфизмов в семьях подростков группы высокого тромбогенного риска, %. Статистически значимые различия: фактор V Лейден — 691G/A — сравнение в группах подростков и старшего поколения (p = 0,018), МТГФР — 677 T/T — то же между подростками и старшим поколением (p = 0,033)*

Иными словами, носительство той или иной известной протромбогенной мутации или полиморфизма генов (участников гемостатических реакций и обмена метионина) зачастую рассматривается и диагностируется как тромбофилия, приводя к ее широко распространенной гипердиагностике (!), нанося моральный и иной вред пациентам и их родственникам. К сожалению, свой вклад вносит и неправомерное использование во врачебных заключениях слова «мутация» при определении результатов оценки носительства полиморфизмов генов (а значит, вариантов нормы по современным представлениям!) — участников системы гемостаза и метаболизма метионина: PAI 1, МТГФР, фибриногена, рецептора тромбоцитов GPIIIa и ряда других генов-кандидатов.

Для дифференцирования факторов тромбогенного риска и тромбофилии решающим выходом из положения видится широкое введение в клиническую практику критериев диагностики одной из классических форм тромбофилии – АФС. (Согласно рекомендациям ISTH, принятым в Саппоро (1998) и Сиднее (2006), диагноз «антифосфолипидный синдром» считается достоверным при сочетании хотя бы одного или более клинических проявлений данной патологии (сосудистый тромбоз, патология беременности) с результатами специальных лабораторных исследований (эффекты волчаночного антикоагулянта, АФА в диагностическом титре) (табл. 5).

Считаем возможным и необходимым распространить данный подход (предусматривающий сочетание тех или иных факторов риска наряду с состоявшимся тромбозом

Таблица 5. *Критерии диагностики АФС*

Клинические критерии	Лабораторные критерии
1. Сосудистый тромбоз: — один или более случаев артериального и/или венозного тромбоза или тромбоза мелких сосудов в любом органе или ткани; — тромбоз должен быть подтвержден доплеровским исследованием или гистологически; — морфологически должны быть признаки тромбоза без значительного воспаления сосудистой стенки. ***2. Патология беременности:*** — 3 и более необъяснимых случаев прерывания беременности до 10 нед гестации с исключением анатомических, генетических, гормональных причин и хромосомных нарушений; — 1 или более случаев внутриутробной гибели нормального плода после 10 нед гестации; — 1 или более случаев преждевременных родов недоношенным плодом до 34 нед гестации, протекающей с выраженной фетоплацентарной недостаточностью или тяжелым гестозом	***1. Антикардиолипиновые антитела:*** — наличие изотипов IgG и IgM в высоких титрах в 2 или более исследованиях с промежутком не менее 12 нед; — выявление стандартизированным методом ELISA антител IgG, IgM к β_2-GPI ***2. Волчаночный антикоагулянт*** Обнаруживается в 2 или более последовательных исследованиях с промежутком не менее 12 нед

или синдромом потери плода) в повседневную диагностическую практику для всех вариантов тромбофилии, что позволит устранить терминологическую путаницу и очертить условия для применения антитромботических препаратов в целях вторичной тромбопрофилактики. Помимо АФС, к тромбофилии по тем же критериям могут быть отнесены синдром Труссо (мигрирующие венозные тромбозы в присутствии ракового прокоагулянта), синдром Мошковича (артериальные микротромбозы на фоне циркуляции в крови крупных мультимеров фактора Виллебранда при недостаточности металлопротеиназы ADAMTS-13), гепарин-индуцированную тромбоцитопению 2-го типа (подкожные и системные венозные тромбозы при наличии антигепариновых антител) и ряд других патологических состояний.

Таким образом, носительство различных факторов тромбогенного риска без их реализации в виде тромбозов и синдрома потери плода не может быть отнесено к тромбофилии (рис. 2).

Очевидно, что тромбофилия по существу не является болезнью, но представляет собой патологическое состояние, обусловленное комбинацией факторов риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), информация о котором (которых) может быть получена по данным индивидуального анамнеза. Она может быть унаследована или связана с болезнью (например, с онкологическими заболеваниями), приемом лекарственных препаратов (например, оральных контрацептивов, стимуляторов эритропоэза) или состоянием здоровья (например, беременностью, послеродовым периодом).

Понимание и принятие данного положения имеет принципиальное значение, поскольку восприимчивость к болезни не подразумевает под собой наличие показаний для первичной или вторичной медикаментозной профилактики.

В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска и состояний, относящихся к тромбофилиям, способных в своем сочетании привести к сосудистым катастрофам. Однако мы считаем не вполне верным деление этих факторов на наследственные (врожденные) и приобретенные, поскольку подавляющее большинство заболеваний и отклонений у человека генетически детерминировано. В основу классификации факторов тромбогенного риска можно положить ***длительность*** воздействия на организм человека и ***управляемость*** со стороны пациента или с помощью средств современной медицины для снижения вероятности артериального или венозного тромбоза.

Неуправляемые факторы риска — возраст, семейный и личный тромботический анамнез, носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов, малая подвижность, связанная с тяжелой травмой, не «0» группа крови, системные проявления ангиодисплазии и ряд других — не поддаются коррекции и сопровождают человека пожизненно. Гораздо более многочисленны временные и сравнительно более управляемые факторы риска, которые в свою очередь могут быть разделены на ***связанные с образом жизни*** (например, вредные привычки, гиподинамия, дистресс при психических и физических перегрузках), ***индивидуальными особенностями*** (беременность), ***обусловленные болезнью или патологи-***

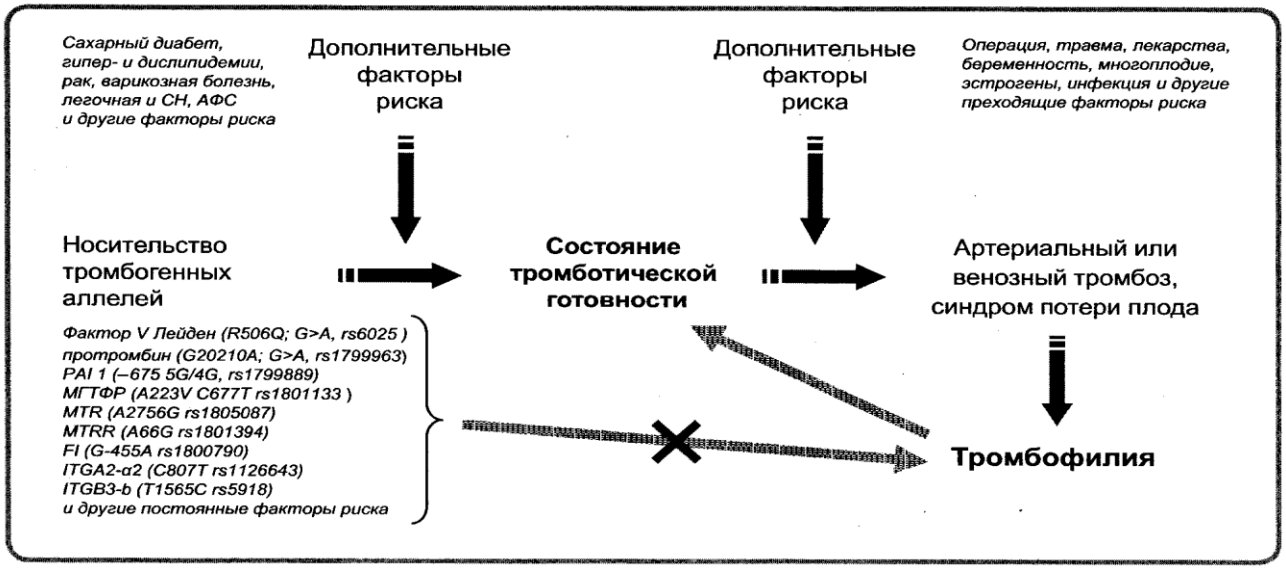


Рис. 2. *Связь факторов тромбогенного риска, тромботической готовности и тромбофилии в генезе тромбозов синдрома потери плода*

ческим состоянием (сахарный диабет, атеросклероз, артериальная гипертензия, нарушения ритма сердца) и ***ятрогенные*** — вызванные медицинским вмешательством (операцией, а также назначением ряда медикаментов — *см. выше)*. Управляемость этих факторов риска различна и должна рассматриваться с точки зрения как этиологии, так и патогенеза тромбообразования, во всех случаях индивидуально. Если современные возможности медицины ограничены в радикальном исправлении пожизненно действующих факторов риска, то, например, замещение дефицита физиологических антикоагулянтов, гепаринопрофилактика, назначение фолатно- витаминного комплекса при избыточном содержании в крови гомоцистеина (более 15 мкмоль/л), снижение вязкости крови при полиглобулии и другие виды патогенетической терапии позволяют модифицировать предрасположенность к тромбозу, снижая вероятность его клинической манифестации.

Предрасполагающие к тромбозу факторы риска удается выявить, по крайней мере, в половине случаев и это весьма поучительно, поскольку распознать отдельные из десятков описанных факторов риска в каждом конкретном случае не представляется возможным вследствие ограниченного времени общения специалиста с больным и высокими затратами на исследования. Тем не менее для лабораторного выявления причин, способствующих возникновению тромбоза можно рекомендовать следующий спектр коагулологических, амидолитических, иммунологических и генетических исследований (табл. 6).

Выбор тех или иных методов исследования, представленных в настоящей таблице, не регламентирован и зависит от возможностей лаборатории, а также информированности специалистов и востребованности ими. Однако можно учесть, что в случае выяснения причин артериального тромбоза сравнительно более высокую значимость имеют признаки высокой вязкости (сгущения) крови, повышение уровня фактора Виллебранда и обозначенных в таблице факторов свертывания крови, гиперагрегация тромбоцитов и гипергомоцистеинемия. Венозным же тромбозам чаще всего предшествует умеренное снижение активности физиологических антикоагулянтов, резкая их недостаточность уже способствует развитию тяжелых смешанных (по локализации) сосудистых ишемий (табл. 7).

Такому же смешанному типу тромбозов способствуют и проявления АФС, сочетающегося с вторичной АПС-резистентностью, сведения о которых приводились в табл. 5. В целом же в задачи настоящей публикации не входил подробный разбор схем обследования в этом направлении, хотя этот вопрос, безусловно, актуален.

Общепринятых показаний для проведения лабораторных исследований с целью выявления возможных причин тромбообразования не существует. Имеются рекомендации о необходимости такого поиска при идиопатическом (спонтанном) или повторном венозном тромбоэмболизме, первом случае тромбоза в молодом возрасте (≤ 30—45 лет для венозного тромбоза, ≤ 50—55 лет для артериального тромбоза), наличии семейного

Таблица 6. *Спектр лабораторных исследований для выявления факторов тромбогенного риска*

Вид исследований	Определяемый показатель
Общий анализ крови	Количество эритроцитов и тромбоцитов, уровень гемоглобина, скорость оседания эритроцитов Определение группы крови
Общий скрининг коагулограммы	Протромбиновый тест, активированное частичное тромбопластиновое время, тромбиновое/рептилазное время, концентрация фибриногена
Сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза	Агрегация тромбоцитов на агрегометре с различными агонистами. Исследование на наличие гепарин-индуцированной тромбоцитопении 2-го типа: определение антител к комплексу гепарин — 4-й фактор тромбоцитов (антигепариновый), оценка гепаринзависимой агрегации тромбоцитов. Антиген фактора Виллебранда. Активность металлопротеиназы ADAMTS-13
Коагуляционное звено гемостаза	Активность факторов свертывания крови II, VIII, IX, XI и XIII. Выявление волчаночного антикоагулянта (антител, обладающих способностью удлинять время свертывания в фосфолипид-чувствительных коагуляционных тестах с подтверждающими исследованиями). Оценка полимеризации (самосборки) фибрин-мономера при диагностике дисфибриногенемии
Физиологические антикоагулянты	Активность и антиген антитромбина III и протеина С. Активность общего и свободного протеина S. АПС-резистентность. Уровень TFPI
Фибринолитическая активность крови	Уровень плазминогена, t-PA, PAI-1 и TAFI
Генетические исследования	Носительство мутации фактора V Лейден (1691 G/A), мутации протромбина (20210 G/A) и ряда других (см. табл. 4). Мутация тирозинкиназы JAK2 (Янус-киназы)
Дополнительные исследования	Антифосфолипидные аутоантитела к кардиолипину и β_2-GPI. Уровень гомоцистеина в сыворотке крови (базальный и после нагрузки метионином)

Таблица 7. *Связь активности антитромбина III в плазме крови с фенотипическими проявлениями его недостаточности*

Активность антитромбина III	Клинические проявления
Менее 5 %	Развитие тяжелых, несовместимых с жизнью тромбозов магистральных вен и артерий, возникновение ишемий и инфарктов органов в детском возрасте
В диапазоне от 18 до 40 %	Склонность к рецидивирующим тромбозам, которые чаще возникают в возрасте старше 16 лет. Больные при этом нередко гибнут от ишемического инсульта, ИМ, тромбоза мезентериальных сосудов
В диапазоне от 50 до 60 %	Ассоциируется с венозными тромбозами или ДВС-синдромом на фоне сепсиса, тяжелой травмой, в послеоперационном периоде, при синдроме потери плода, длительном или высокодозном использовании обычного или низкомолекулярного гепаринов

тромботического анамнеза (у родственников первой линии с тромбозом в молодом возрасте); тромбозе необычной локализации (церебральной, воротной, печеночной вены, мезентериальных и почечных артерий и вен, сосудов верхних конечностей), молниеносной пурпуре новорожденных, тромбозах, возникших на фоне приема варфарина (варфариновый некроз кожи) или гепарина. При принятии решения о назначении комбинированных оральных контрацептивов или ГЗТ рекомендуется исключение носительства мутации фактора V Лейден и мутации протромбина (20210A). Для исключения АФС целесообразно обследовать женщин с бесплодием и привычным невынашиванием беременности. Полученная информация может быть полезна для индивидуального решения вопроса о необходимой длительности приема антикоагулянтов для вторичной тромбопрофилактики после состоявшегося венозного тромбоза и ТЭЛА. В целом существующие показания для обследования на наличие факторов тромбогенного риска обуславливаются клинической картиной и исключают необходимость обследования всего населения по целому ряду соображений: затратам на диагностику, способности вызвать необоснованное беспокойство и страх членов семей, возможным проблемам при медицинском страховании.

Последнее положение нам видится спорным. В соответствии с представлениями и собственными данными Алтайского филиала Гематологического научного центра Минздрава России формирование группы высокого тромбогенного риска и ведение соответствующего регионального регистра необходимо инициировать как можно раньше, с детского возраста, для того чтобы иметь возможность внедрения в практику здравоохранения принципов первичной тромбопрофилактики сосудистых ишемий, бесплодия и осложнений беременности, что, безусловно, отразится на здоровье нации при масштабировании данных подходов. Поставленная задача может быть достигнута прежде всего за счет организации своевременного выявления и модификации управляемых факторов риска, подключения к этой работе широкой сети российских центров здоровья.

В реальной медицинской практике выявление всех возможных причин, предрасполагающих к тромбозу, часто весьма проблематично в силу разных причин. И в случаях необходимости быстрого принятия решения о назначении противотромботических препаратов (например, при наличии клинических признаков претромбоза — тромбирования иглы при венепункции, замедления венозного кровотока при ультразвуковом исследовании сосудов нижних конечностей, перманентных признаках органной дисфункции, осложнениях беременности, в том числе при нарушении фетоплацентарного кровотока и др.), ведущие позиции при обследовании больных приобретают методы исследования системы гемостаза, позволяющие оперативно выявлять и измерять нарастающую тромбогенность крови, требующую коррекции.

В этом месте необходимо снова вернуться к теме дефиниции. Как известно, термины «тромбофилия» и «повышенная свертываемость крови» часто используют как синонимы, в то время как на самом деле эти понятия различны. Повышенная свертываемость крови или «гиперкоагуляционный синдром/состояние» — это лабораторный феномен, посредством которого *in vitro* специальными методами анализа системы гемостаза распознаются активация тромбоцитов и процесса образования фибрина, и в ряде случаев подавление фибринолитических реакций. Повышенная свертываемость крови может провоцироваться лекарствами, используемыми для лечения кровотечения при гемофилии, сепсисом, воспалением, хирургическим вмешательством, стазом крови, атеросклерозом и многими другими факторами и состояниями. Но она может проявляться и гипокоагуляцией при анализе коагулограммы — в случае развития варфаринового некроза кожи, связанного с врожденным дефицитом протеина С на фоне лечения кумаринами, гепарин-индуцированной тромбоцитопении при назначении гепаринов и эффектах волчаночного антикоагулянта, свойственных АФС. Следовательно, такие понятия как «гиперкоагуляционный синдром» или «гиперкоагуляционное состояние» не отвечают сути патологического процесса и должны быть рассмотрены как несостоятельные и устаревшие.

Нами предлагается альтернативное, клинически оправданное понятие — «состояние тромботической готовности», которое способно объединить в себе лабораторно выявляемую гиперкоагуляцию или гипокоагуляцию, повышение уровня маркеров внутрисосудистого свертывания крови, а также ряд отмеченных выше клинических признаков предтромбоза. Соответственно, реализация этой готовности

при сохраняющихся факторах риска и их умножении (например, операции, травме, воспалении, неотложном состоянии, иммобилизации, СН, обезвоживании, дистрессе, приеме эстрогенов и др.) проявляется сосудистой катастрофой. Таким образом, состояние тромботической готовности формируется при кооперации различных факторов тромбогенного риска и непосредственно предшествует тромбозу, а также сопровождает его при отсутствии или низкой эффективности антитромботической профилактики и терапии (см. рис. 2).

К лабораторным маркерам состояния тромботической готовности можно отнести активацию тромбоцитов — по данным исследования их функциональной активности на агрегометре или по увеличению экспрессии β-тромбомодулина, а также 3-го и 4-го пластиночных факторов. Не менее значимым свидетелем такой готовности является нарастание концентрации ряда маркеров активации свертывания крови и состоявшегося фибринолиза — тканевого фактора, активированного фактора VII, комплекса тромбин-антитромбин, фрагмента протромбина 1 + 2, фибринопептида А, растворимых комплексов фибрин-мономера и D-димеров. Последним принадлежит особая роль, учитывая опыт их широкого применения в клинической практике для диагностики венозного тромбоэмболизма и контроля над эффективностью применения антикоагулянтов.

В последнее десятилетие появились новые перспективные подходы, претендующие на особую роль в распознавании тромботической готовности. В этом направлении большие перспективы имеет тест калиброванной тромбографии (тест генерации тромбина, ТГТ), предложенный H. Hemker et al. (2000-2006), позволяющий с высокой точностью измерять динамику как образования, так и инактивации тромбина - ключевого фермента свертывания крови. В ходе выполнения ТГТ (при использовании флуориметра и компьютерной обработки данных) измеряют площадь и пик кривой генерации тромбина, имеющей восходящую часть, участок достижения максимума и нисходящую часть, характеризующую инактивацию этого фермента. Данный тест реагирует на любые посылы к активации свертывания в плазме крови и в связи с этим носит интегральный характер. Другой новый метод исследования - оценка пространственной динамики роста сгустка фибрина - был разработан в лаборатории физической биохимии Гематологического научного центра Минздрава России и описан в ряде фундаментальных и прикладных работ. Анализ при его выполнении проводится в тонком слое плазмы, свертывание в которой активируется тканевым фактором, фиксированным на одной из сторон измерительной кюветы. В ходе исследования ведется видеосъемка растущего сгустка фибрина, параметры которого позволяют судить о динамике фибринообразования во времени и пространстве, в двух системах координат. Появление этих «глобальных» подходов обозначает несомненный прогресс в области стандартизации и совершенствования диагностики широкого спектра нарушений гемостаза, они могут применяться для отбора пациентов группы риска по тромботическим и геморрагическим осложнениям, но необходимо учитывать, что анализу в них подлежит, как правило, плазма, лишенная тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов, что исключает влияние клеточной составляющей крови на получаемые результаты.

В целом можно подчеркнуть, что сегодня очень важно дистанцироваться от гипердиагностики тромбофилии и использования такого заключения как фатального и неуправляемого при объяснении тяжелых сосудистых осложнений и смерти больных в медицинской практике. Пути выхода из этого положения существуют, и они кроются в понимании и единстве терминологии, касающейся сути процесса, и учете возможностей управления факторами тромбогенного риска.

Клинические случаи

Пример № 1

Больной Щ. В., *43 года, житель района Алтайского края. Обратился в клинику в 2005 г. в связи с высоким уровнем гемоглобина (более 180 г/л), повышением артериального давления (до 180/100 мм рт. ст.), жалобами на сжимающие боли в области сердца, одышку, сердцебиение, головные боли. У отца — высокий уровень гемоглобина (170—190 г/л), артериальная гипертензия. Дед пациента умер от ишемического инсульта. В возрасте 51 года он же перенес ИМ. При исследовании крови больного определены следующие показатели: гемоглобин — 184 г/л, эритроциты — 5,5 х 10^{12}/л, гематокрит — 48,1 %. По данным липидограммы: высокий уровень холестерина, липопротеинов низкой плотности. В ходе обследования были исключены миелопролиферативные заболевания, а также симптоматический эритроцитоз, обусловленный патологией легких, почек и печени. Уровень гомоцистеина в крови оказался повышенным — 21,0 мкмоль/л.*

По данным коагулограммы найдены высокие уровни маркеров тромбинемии (по количеству растворимых фибрин-мономерных комплексов и D-димеров), повышение агрегации тромбоцитов при оценке их функции с адреналином и коллагеном; замедление времени XIIa-зависимого фибринолиза, повышение активности фактора VIII. После генетического обследования установлено сочетанное носительство мутации протромбина (G20210A) G/A с полиморфизмом МТГФР (677) C/T, PAI-14G/5G, фибриногена (—455) G/A и тромбоцитарного рецептора фибриногена GPIIIa T/C.

Заключение. Наличие следующих факторов тромбогенного риска: носительство полиморфизмов гена про-

тромбина (G20210A) G/A, МТГФР (677) C/T, PAI-14G/5G, фибриногена и тромбоцитарного рецептора фибриногена GPIIIa T/C; гипергомоцистеинемия, семейная полиглобулия, гиперлипидемия, артериальная гипертензия. Состояние тромботической готовности, обусловленное повышением уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина, D-димеров) и гиперактивацией тромбоцитов.

Рекомендовано. Проведение курсов первичной тромбопрофилактики, направленной на нормализацию уровня гомоцистеина (применение фолатно-витаминного комплекса, длительно); коррекцию гиперагрегационного синдрома (антиагреганты после установления чувствительности к ним, длительно), тромбинемии (низкомолекулярные гепарины в профилактических дозах); устранение полиглобулии (цитаферез, гирудотерапия); коррекцию гиперлипидемии с применением статинов, подбор оптимальных препаратов для гипотензивной терапии. Динамический контроль маркеров тромботической готовности (2 раза в год) и, при необходимости, проведение повторного курса тромбопрофилактики.

Результат. За прошедшие 10 лет наблюдений при соблюдении рекомендаций у больного высокий риск артериальной ишемии реализован не был, диагноз тромбофилии исключен, поскольку документированных, клинически значимых эпизодов тромбоза определено не было.

Пример № 2

***Больная М.Т.,** 49 лет, жительница района Алтайского края, обследована и прошла консультацию в ноябре 2010 г. в подостром периоде острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу с поражением подкорковых структур с явлениями дизартрии, тетрапареза, нарушений функции тазовых органов, для уточнения причин тромбоза сосудов головного мозга. Выявлен отягощенный тромботический анамнез по материнской линии. При обследовании определены носительство полиморфизма гена МТГФР (677) T/T в сочетании с гипергомоцистеинемией (22,0 мкмоль/л), гиперагрегационный синдром с явлениями аспиринорезистентности, повышение активности фактора VIII (210 %), высокий уровень маркеров тромбинемии (по количеству растворимого фибрина, D-димеров).*

Заключение. Тромбофилия, обусловленная полиморфизмом гена МТГФР (677) T/T и повышением активности фактора VIII, реализованная острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу. Состояние тромботической готовности (повышение активности тромбоцитов, тромбинемия).

Рекомендовано. В связи с установлением аспиринорезистентности препараты аспирина заменены на клопидогрел. Назначен курс лечения препаратом ангиовит и курс гепаринопрофилактики низкомолекулярными гепаринами. Повторное обследование на наличие состояния тромботической активности — раз в 2—3 мес.

Пример № 3

***Больная Н.О.,** 69 лет, жительница г. Барнаула. С30.08по 16.09.2010г. находилась в ортопедическом отделении Алтайской краевой клинической больницы с диагнозом «идиопатический двусторонний деформирующий коксартроз III степени». Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II степени, II стадии, риск 2, хроническая СН I, функциональный класс II, варикозная болезнь нижних конечностей, хроническая венозная недостаточность I степени. 02.09.2010 проведена плановая операция — тотальное цементное эндопротезирование тазобедренного сустава. Учитывая, что данное оперативное вмешательство относится к тромбоопасным, в качестве средства тромбопрофилактики был назначен дабигатрана этексилат (per os по 110мг через 4 ч после операции, далее по 220мг 1 раз в сутки). На 5-е сутки после операции у пациентки при плановом дуплексном исследовании вен нижних конечностей определен субклинический тромбоз суральных вен справа.*

Данные генетического обследования — мутация фактора V Лейден (1691) G/A, полиморфизм генов МТГФР (677) T/T.

При лабораторном исследовании гемостаза после факта установления тромбоза найден высокий уровень маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров). Наряду с этим в эхитоксовом тесте, рекомендованном для мониторинга действия дабигатрана, характерного для приема этого прямого орального антикоагулянта удлинения времени свертывания не наблюдалось. Выяснено, что последнее было связано с низкой комплаентностью пациентки, негласно отказавшейся от приема дабигатрана.

Заключение. Тромбофилия, обусловленная мутацией фактора V Лейден (1691) G/A и полиморфизмом гена МТГФР (677) T/T, варикозной болезнью нижних конечностей, операцией по поводу замены тазобедренного сустава. Тромбоз суральных вен справа в раннем послеоперационном периоде. Состояние тромботической готовности, обусловленное повышением уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров).

Рекомендовано. Применение эноксапарина натрия в лечебной дозе (подкожно, 1 мг/кг массы тела каждые 12 ч).

Определение уровня гомоцистеина, агрегационной функции тромбоцитов. Контроль уровня маркеров тромбинемии и дуплексное сканирование вен нижних конечностей — через 1 и 3 мес после операции. Решение вопроса о переводе на прием непрямых антикоагулянтов — антагонистов витамина К (после консультации психолога и с учетом данных исследования системы гемостаза).

Можно заметить, что приведенные выше, разноплановые клинические примеры объединяет влияние широкого спектра постоянных или временных факторов тромбогенного риска. Однако именно наличие или отсутствие у пациентов состояния тромботической готовности, определяемой по объективным лабораторным

данным, дает основание для применения средств антитромботической направленности. При этом целесообразны действия, направленные на коррекцию модифицируемых или управляемых факторов тромбогенного риска (борьба с полиглобулией, артериальной гипертензией, гиподинамией, гипергликемией, нормализация липидного обмена, венозного кровотока, отказ от приема эстрогенсодержащих препаратов, снижение травматичности плановых оперативных вмешательств посредством выбора малоинвазивных вариантов и др.).

Заключение

В лекции приводится позиция, основанная на собственном многолетнем опыте оказания помощи больным с факторами тромбогенного риска и рецидивирующими тромбозами. Предложенные подходы к пониманию проблемы тромбофилии можно изложить в следующих тезисах.

1. Большинство людей-носителей постоянных или временных факторов риска тромбоза не страдают тромбозами на протяжении жизни, хотя и имеют вероятность развития этой патологии. Тем не менее наличие факторов тромбогенного риска часто приравнивается к тромбофилии, что приводит к гипердиагностике тромбофилии, особенно во время беременности, и ведет к необоснованной полиграмазии. Очевидно, что тромбофилией могут быть обозначены лишь те состояния, которые проявили себя повторными тромбозами или синдромом потери плода в индивидуальном анамнезе, как это было сделано ISTH в 1998-2006 гг. в отношении формирования критериев диагностики АФС.

2. Между наличием факторов тромбогенного риска и тромбозом выделяется состояние предтромбоза, часто описываемое как «гиперкоагуляционный синдром/ состояние». Более оправдано использование альтернативного понятия - «состояние тромботической готовности», способного объединить в себе лабораторно выявляемую склонность к свертыванию крови и клинические признаки предтромбоза. Именно реализация этой готовности при сохраняющихся факторах тромбогенного риска и их сочетании с высокой вероятностью способна проявиться сосудистой катастрофой.

3. Состояние тромботической готовности предшествует тромбозу, а также сопровождает его. Для выявления данного состояния необходимо учитывать активность тромбоцитов и уровень маркеров активации коагуляционного звена гемостаза - прежде всего D-димеров. В то же время хорошие перспективы имеют новые интегральные методы исследования системы гемостаза - ТГТ и оценка пространственной динамики роста сгустка фибрина, способные обнаружить тромботическую готовность при наличии большого спектра факторов тромбогенного риска. Показания данных тестов, с учетом клинической картины, могут рассматриваться как объективная предпосылка к назначению антитромботических препаратов.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Heit J.A. Thrombophilia: Clinical and Laboratory Assessment and Manajement. In: Kitchens C.S., Kessler C.M., Konkle B.A., eds. Consultative Hemostasis and Thrombosis. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2013. Pp. 205-39.
2. Kearon C., Akl E.A., Comerota A.J. et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College
3. of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest 2012;141(2):e419S-94S.
4. Lopes L.C., Eikelboom J., Spencer F.A. et al. Shorter or longer anticoagulation to prevent recurrent venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. BMJ Open 2014;4(7):e005674.
5. McManus R.J., Fitzmaurice D.A., Murray E., Taylor C. Thromboembolism. Clin Evid 2011;2011:pii:0208.
6. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед; 2008.
[Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostics and controlled therapy of violations of a hemostasis. Moscow: N'yudiamed, 2008. (In Russ.)].
7. Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. и др. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета, 2011.
[Momot A.P., Tsyvkina L.P., Taranenko I.A. et al. Modern methods of recognition of a condition of trombotichesky readiness. Barnaul: Izd-vo Altai State University, 2011. (In Russ.)].
8. Момот А.П., Строзенко Л.А., Цывкина Л.П. и др. Первичная тромбопрофилактика у детей Алтайского края на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска. Методические рекомендации для врачей педиатров, клинических ординаторов и интернов. Барнаул: Изд-во АГМУ, 2013.
[Momot A.P., Strozenko L.A., Tsyvkina L.P. et al. Primary tromboprofilaktika at children of Altai Krai on the basis of identification and modification of constant and temporary factors of trombogenny risk. Methodical recommendations for pediatricians, clinical interns and interns. Barnaul: Izd-vo AGMU, 2013. (In Russ.)].
9. Наместников Ю.А. Тест генерации тромбина - интегральный показатель состояния системы свертывания крови. Гематология и трансфузиология 2010;2:32-9. [Namestnikov Yu.A. The test of generation of thrombin - an integrated indicator of a condition of system of a fibrillation. Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Blood Transfusion 2010;2:32-9. (In Russ.)].
10. Сошитова Н.П., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Использование глобальных методов оценки состояния гемостаза при сепсисе. Проблемы клинической медицины 2012;1:27-35. [Soshitova N.P., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I. Use of global methods of an assessment of a condition of a hemostasis at sepsis. Problemy klinicheskoy meditsiny = Problems of Clinical Medicine 2012;1:27-35. (In Russ.)].

ЭВОЛЮЦИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ТРОМБОФИЛИИ И ЕЕ РОЛИ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 615.151.5-084

А. П. Момот

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул

В статье представлены новые взгляды на состояние тромбофилии и факторы тромбогенного риска, предшествующие и сопутствующие артериальному или венозному тромбозу. Взамен устаревшего термина «гиперкоагуляционный синдром/состояние» предлагается понятие «состояние тромботической готовности», наиболее полно описывающее клинические и лабораторные проявления активации свертывания крови, в том числе на фоне приема антикоагулянтов. Приведена классификация факторов тромбогенного риска с учетом длительности их действия и управляемости. Описана ситуационная тром- бопрофилактика при двух видах высокотехнологичной медицинской помощи - тотальной артропластике тазобедренного сустава и экстракорпоральном оплодотворении.

Ключевые слова: тромбофилия, факторы тромбогенного риска, тромбозы, тромбопро- филактика

The paper presents new perspectives on the state of thrombophilia and thrombogenic risk factors, and preceding and co-occurring arterial or venous thrombosis. Instead of the obsolete term «hyper coagulative syndrome/ state», a new concept is proposed «condition of thrombotic readiness » «that best describes the clinical and laboratory manifestations of activation of blood coagulation, including in patients receiving anticoagulants. The classification of thrombogenic risk factors is described, including the duration of their action, and management. Situational thromboprophylaxis is described with two types of high-tech medical care - total hip arthroplasty and in vitro fertilization.

Keywords: thrombophilia, thrombogenic risk factors, thrombosis, thromboprophylaxis

В 2003 г. по инициативе академика РАН и РАМН А. И. Воробьева и члена-корреспондента РАМН З. С. Баркагана в г. Барнауле был открыт Алтайский филиал Гематологического научного центра (ГНЦ) РАМН, находящийся в настоящее время в ведомстве Минздравсоцразвития РФ. В рамках основных направлений исследований ФГБУ ГНЦ Минздрава России, утвержденных бюро отделения клинической медицины РАМН, Алтайским филиалом ведутся следующие научные разработки:

- совершенствование учения о гематогенных тромбофилиях и методов диагностики, профилактики и лечения тромбоэмболического синдрома;
- изучение патогенеза и совершенствование методов диагностики и терапии тромбогеморрагического синдрома.

В повседневной клинической практике специалисты Алтайского филиала ГНЦ работают с многочисленными пациентами, страдающими тромбозами и тромбоэмболическим синдромом, приводящими нередко к инвалидизации и летальному исходу. Как известно, в России число регистрируемых венозных тромбозов составляет 145-200 случаев ежегодно (на 100 тыс. населения). И это только видимая часть картины, поскольку более 70% эпизодов таких тромбозов протекают субклинически, не настораживая ни больных, ни врачей, но представляют опасность развитием фа- **10** тальной тромбоэмболии. Артериальные же тромбозы (острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт) регистрируются уже в 775-850 случаях соответственно и имеют тенденцию к ежегодному росту на 9-12%. Этим событиям предшествует склонность к тромбозам, понятие о которой в настоящее время не только не сформировано, но и в ряде случаев противоречиво, что дезориентирует врачей и способствует необоснованной и во многих случаях опасной полипрагмазии, прежде всего в акушерской практике [1].

Цель данной публикации - привлечь внимание специалистов к проблеме и идеям, имеющим отношение к целому спектру видов клинической патологии, протекающих с тромбозами и тромбоэмболиями, д. выработки новых подходов к диагностике и лечени претромботических состояний, лежащих в основе высок смертности.

В этом направлении на основании собственного многолетнего клинического опыта было выполнено следующее.

1. Установлены новые классификационные критерии факторов тромбогенного риска, состояния тромботической готовности и тромбофилии, закономерно предшествующих тромбозу и тромбоэмболиям.

Достижения современной генетики свидетельствуют, что основные компоненты гемостатических реакций имеют возраст более 450 млн. лет [2; 3], а самые ранние белки: фибриноген, фактор II (протромбин) и тканевой фактор - были представлены еще у одноклеточных микроорганизмов. Система гемостаза в нашу эпоху имеет гораздо более сложную организацию и используется для остановки кровотечения при травме и обеспечения жидкого состояния крови в неповрежденных кровеносных сосудах, и не только для этого. Проведенные нами и нашими коллегами исследования указывают на еще одну важную функцию рассматриваемой системы - экстравазальную, которая во взаимодействии с механизмами воспаления способствует образованию периваскулярного фибринового блока и отграничению инфекционного начала и пораженной ткани от здоровой [4; 5].

Часто нарушения в этой многокомпонентной системе способны привести к развитию тромбозов и фатальных тромбоэмболий. В ранней истории человека мутации в гене фактора V давали в эволюционном смысле известные преимущества, поскольку они препятствовали опасной для жизни кровопотере при травмах в молодом возрасте. Однако это приспособление сегодня играет уже резко

отрицательную роль при достижении более зрелого возраста.

Большинство людей - носителей постоянных или временных факторов риска тромбоза - не страдают тромбозами на протяжении жизни, хотя и имеют вероятность развития этой патологии [6; 7]. Учитывая имеющийся клинический опыт, мы считаем, что к **факторам тромбогенного риска** необходимо относить постоянные (генетически обусловленные) и временные (вторичные, действующие в определенный промежуток времени) отклонения и индивидуальные особенности человека, способные в различных сочетаниях привести к развитию тромботической готовности и в последующем - появлению тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов.

Термины «тромбофилия» и «повышенная свертываемость крови» часто используют как синонимы, в то время как на самом деле эти понятия различны. Повышенная свертываемость крови, или «гиперкоагуляционный синдром/состояние», - это лабораторный феномен, посредством которого специальными методами анализа системы гемостаза распознаются активация тромбоцитов и процессы образования фибрина, подавление фибринолитических реакций, повреждение эндотелия кровеносных сосудов, которые сопровождаются такими проявлениями, например, как тромбиро- вание иглы при венепункции или замедление венозного кровотока. Однако в практике склонность к тромбообразованию может сопровождаться и замедлением свертывания крови в связи с циркуляцией волчаночного антикоагулянта или дис- фибриногенемией, при развитии варфариновых некрозов кожи или парадоксальных тромбозах при гепаринотерапии. Последнее противоречит смыслу терминов «гиперкоагуляционный синдром/ состояние» и делает их устаревшими [8; 9].

Нами предлагается альтернативное, клинически оправданное понятие - **«состояние тромботической готовности»,** которое способно объединить в себе лабораторно выявляемую гиперкоагуляцию, высокий уровень маркеров внутрисосудистого свертывания крови, а также ряд клинических признаков предтромбоза (увеличение вязкости крови, замедление кровотока по данным дуплексного ангиосканирования венозного кровотока, интермиттирующие признаки органной дисфункции). Соответственно, реализация этой готовности при сохраняющихся факторах риска и их умножении (например, при проведении операции, травме, воспалении, неотложном состоянии, приеме эстрогенов) с высокой вероятностью способна проявиться сосудистой катастрофой [9].

Принято считать, что тромбозу и синдрому потери плода предшествует и сопутствует тромбофилия [10-13]. В 1995 г. Всемирная организация здравоохранения и Международное общество по тромбозу и гемостазу (ISTH) определили тромбофилию как необычную наклонность к тромбозу с ранним возрастным началом, отягощенностью семейного анамнеза, степенью тяжести тромбоза, непропорциональной известному причинному фактору и эпизодам рецидивов тромбоза. Согласно определению проф. З. С. Баркагана (1996, 2005) [14; 15], под тромбофилией понимаются все наследственные (генетически обусловленные) и приобретенные (вторичные, симптоматические) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов. В сравнении этих двух классификаций можно видеть более детальное изложение клинических ситуаций (в классификации З. С. Баркагана), при которых имеется предрасположенность к тромбозу, - исчерпывающий учет приобретенных состояний и видов патологии со склонностью к тромбозам, в т. ч. при обменных заболеваниях - диабете, ожирении, подагре, при аутоиммунных и инфекционно-иммунных заболеваниях (иммунных тромбоваскулитах, сепсисе и т. д.), при ряде медикаментозных воздействий (ятрогенные формы). В клинических же рекомендациях Американской коллегии торакальных врачей по антитромботической и тромболитической терапии (ACCP, 2008) тромбофилия определяется лишь как наличие одного или более следующих признаков: дефицит антитромбина, дефицит протеина С, дефицит протеина S, резистентность активированному протеину С, мутация фактора V Лейден, мутация протромбина G 20210A, гипергомоцистеинемия, гомозиготное носительство термолабильного варианта метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), антифосфолипидных антител или волчаночного антикоагулянта, увеличение активности фактора VIII или сниженный уровень протеина Z [16].

Можно видеть, что развитие взглядов на тромбофилию зашло в тупик, поскольку ее наличие у пациента отождествляется в мировой практике лишь с носительством того или иного известного фактора (или факторов) тромбогенного риска. И частое заблуждение среди клиницистов сегодня - замена понятия «фактор (или факторы) тромбогенного риска» на понятие «тромбофилия». Таким образом, носительство той или иной известной протромбогенной мутации или полиморфизма генов (участников гемостатических реакций и обмена метионина) нередко рассматривается и диагностируется как тромбофилия.

В ходе клинико-генетических исследований в период 2010-2012 гг., проведенных сотрудниками Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН совместно с лабораторией фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, в случайной выборке у 1915 жителей Алтайского края (без явных признаков патологии) носительство хотя бы одной из четырех наиболее известных тромбогенных мутаций или полиморфизмов [FV Лейден (R506Q; G>A), Fll (G20210A; G>A), PAI-1 (675; 5G/4G), MTHFR (A223V C677T; C>T)] установлено в 91,8% случаев (9; 17]. Но эго не значит, что все эти люди страдают тромбофилией и их необходимо лечить.

В этом направлении настоящим прорывом видится введение в практику критериев диагностики одной из известных форм тромбофилии - антифосфолипидного синдрома (АФС) Согласно рекомендациям ISTH, диагноз АФС считается достоверным при сочетании хотя бы одного или более клинических проявлений данной патологии (сосудистый тромбоз, патология беременности) с результатами специальных лабораторных признаков (эффекты волчаночного антикоагулянта, антифосфолипидные антитела в диагностическом титре) [18]. Мы считаем возможным и необходимым распространить данный подход в диагностическую практику (обязательное сочетание тех или иных факторов риска наряду с состоявшимся тромбозом) на все варианты тромбофилии, что позволит устранить терминологическую путаницу и многочисленные ошибки в диагностике

Таким образом, тромбофилия не является какой-либо болезнью, но представляет собой патологическое состояние, вызванное комбинацией врожденных

и/или приобретенных факторов риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), объективные сведения о котором (которых) могут быть получены в настоящий момент или по данным индивидуального анамнеза.

2. Создана классификация факторов риска для формирования группы высокого тромбогенного риска с целью первичной тромбопрофилактики в онтогенезе.

Многие специалисты отрицают значимость генетической предрасположенности в развитии тромбоза, что аргументируется не всегда видимой связью между этими явлениями. Действительно, прямая ассоциация может быть сомнительной, о чем свидетельствует ряд публикаций [19]. Согласно Heit et al. [20], кумулятивная пожизненная вероятность возникновения тромбоза (пенетрантность) среди носителей наиболее часто встречающейся семейной тромбофилии (фактор V Leiden) составляет лишь около 10%. Таким образом, у 90% носителей этой аномалии имеется лишь постоянный врожденный фактор риска. Тем не менее мы считаем. что такая связь объективна и обоснованна, но ее необходимо оценивать в контексте присутствия у человека не какого-либо одного фактора риска, а их комбинаций, в т. ч. сочетания врожденных (постоянных) и приобретенных (временных, преходящих и длительно действующих) факторов риска, обусловливающих во всех случаях мультигенное происхождение тромбофилии.

В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска, способных в своем сочетании привести к сосудистым катастрофам [21: 22]. Однако мы считаем ошибочным общепринятое деление этих факторов на наследственные (врожденные) и приобретенные, поскольку подавляющее большинство заболеваний и отклонений у человека генетически детерминировано. В основу классификации факторов тромбогенного риска необходимо положить **длительность** воздействия на организм человека и **управляемость** со стороны пациента или с помощью средств современной медицины для снижения вероятности формирования состояния тромботической готовности и последующего тромбоза.

Неуправляемые факторы риска: возраст, семейный и личный тромботический анамнез, носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов, гиподинамия, связанная с тяжелой травмой, не «0» группа крови и ряд других - не поддаются коррекции и сопровождают человека пожизненно. Гораздо более многочисленны временные и сравнительно более управляемые факторы риска, которые в свою очередь могут быть разделены на **связанные с образом жизни** (вредные привычки, гиподинамия, физические перегрузки), **индивидуальными особенностями** (беременность), **обусловленные болезнью или патологическим состоянием** (сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь, нарушения ритма сердца) и **ятрогенные** - вызванные медицинским вмешательством (операция, назначение ряда медикаментов). Управляемость этих факторов риска различна и должна рассматриваться с точки зрения как этиологии, так и патогенеза тромбообразования, индивидуально. Если современные возможности медицины ограничены в радикальном исправлении пожизненно действующих факторов риска, то, например, замещение дефицита физиологических антикоагулянтов, гепаринопрофилактика, назначение фолатно-витаминного комплекса при избыточном содержании в крови гомоцистеина (более 15 мкмоль/л) и другие виды патогенетической терапии позволяют модифицировать предрасположенность к тромбозу, снижая вероятность его манифестации [9; 23: 24].

Эти идеи использованы в пилотном проекте при формировании группы высокого тромбогенного риска в сплошной выборке детей до 15 лет, проживающих на территории Алтайского края. С учетом данных генетического тестирования и результатов анкетирования (для выявления дополнительных факторов риска) в данную группу отнесены 70 из 1595 детей, или 4,39%, что не было конечной целью. В каждом конкретном случае у отобранных детей были выделены управляемые факторы тромбогенного риска и проявления предтромбоза (гипергомоцистеинемия, прием эстрогенов, занятия игровыми видами спорта, наличие хронических инфекций, соматической патологии, вредных привычек), модификация которых с участием специалистов педиатрического профиля и составила основу и начало проведения первичной тромбопрофилактики в онтогенезе, не описанную ранее в мировой практике. Предложенный нами алгоритм формирования группы высокого тромбогенного риска у детей и технология первичной тромбопрофилактики на базе центров здоровья в составе методических рекомендаций поддержан руководством ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздравсоцразвития России. В дальнейшем в рамках этого проекта планируется оценка медико-социального и экономического эффектов от внедрения данной технологии и расширение проекта с бюджетным финансированием.

3. Отобраны современные информативные критерии диагностики состояния тромботической готовности, дающие основание для начала медикаментозной тромбопрофилактики.

Состояние тромботической готовности может формироваться при кооперации различных факторов тромбогенного риска и непосредственно предшествует тромбозу, а также сопровождает его. С практической точки зрения, учитывая современные возможности клинико-диагностических лабораторий и наш опыт работы, из нескольких десятков описанных маркеров можно считать необходимым и достаточным определение следующих показателей тромбогенной опасности: повышения уровня маркеров тромбинемии и активации тромбоцитов, укорочения конечного этапа свертывания крови [25], гипергомоцистеинемии, проявлений эндотелиопатии, полиглобулии, а также нарастания уровня С-реактивного белка как интегрального маркера воспалительной реакции, связанной с реакциями гемостаза [5; 26; 27]. В этом отношении большую перспективу имеет также недавно появившийся тест калиброванной тромбографии позволяющий с высокой точностью измерять динамику как образования, так и инактивации тромбина [28; 29]. Широкое внедрение технологии распознавания состояния тромботической готовности (а не наличия факторов тромбогенного риска!) позволит, как показали наши исследования, получать объективные предпосылки для начала проведения медикаментозной тромбопрофилактики [30; 31].

4. Разработана методология ситуационной дифференцированной тромбопрофилактики с

учетом ведущих факторов тромбогенного риска при оказании высокотехнологичных видов медицинской помощи.

Очевидно, что управляемость факторов тромбогенного риска различна, и она должна рассматриваться с точки зрения как этиологии, так и патогенеза внутрисосудистого тромбообразования. Своевременное и дифференцированное использование доступных методов тромбопрофилактики позволит модифицировать предрасположенность к внутрисосудистому свертыванию крови и добиться лучших результатов лечения больных. В этом направлении в 2010-2012 гг. в Алтайском филиале ГНЦ выполнялись два оригинальных исследования посвященных изучению и индивидуальной коррекции ряда факторов тромбогенного риска при оказании высокотехнологичных и квотируемых государством видов медицинской помощи - тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава и экстракорпоральном оплодотворении, показавших в итоге ощутимый клинический результат.

Первое исследование включало в себя определение факторов тромбогенного риска (до эндопротезирования), реализующих себя в мало изученных в настоящее время условиях - на фоне использования современных схем фармакологической тромбопрофилактики. Результаты, полученные при артропластике у 245 больных, проявили определенные закономерности в носительстве постоянных и временных факторов тромбогенного риска, приведших к документально подтвержденному венозному тромбозу. Большинство из них относилось к факторам риска артериального тромбоза. На фоне применения антикоагулянтов (эноксапарин, дабигатран) утрачивали свое значение такие предикторы, как личный и семейный тромботический анамнез, повышение индекса массы тела, высокий уровень растворимого фибрина, активация тромбоцитов и ряд других. С учетом этих данных был создан новый алгоритм тромбопрофилактики, учитывающий необходимость деления ортопедических больных на группы высокого и крайне высокого тромбогенного риска, дифференцированной подготовки пациентов к операции и индивидуального подбора вида и длительности применения антикоагулянтов [32;33]. Этот опыт и созданный алгоритм планируется к внедрению в работу открываемого в Алтайском крае Федерального центра травматологии и ортопедии, где ведущие факторы тромбогенного риска будут модифицироваться еще до оперативного вмешательства.

Второй пример внедрения описанной выше методологии связан с проблемой бесплодия. Преодоление этой проблемы - одно из важных направлений в современном акушерстве [34-36]. Исследованиями нашего центра, проведенными на 327 женщинах, установлено, что для успешного исхода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) помимо традиционных для репродуктологов факторов риска неудач решающее значение имеют высокая тромбогенность крови (на фоне нагрузки эстрогенами) и депрессия фибринолитической активности крови, в совокупности снижающие вероятность наступления беременности в 12,1 раза. И эти нарушения встречаются примерно у 3 из 4 женщин, нуждающихся в данной репродуктивной технологии. В ходе работы определены и обоснованы чувствительные критерии для отбора пациенток с высоким риском неудачи ЭКО. В их число вошли такие проявления состояния тромботической готовности, как избыточная генерация тромбина и снижение фибринолитической активности сосудистой стенки. В данном исследовании мы впервые предложили и апробировали метод и режим перемежающей пневматической компрессии (ППК) для коррекции гипофибринолиза при бесплодии и при вынашивании беременности [31; 37].

Проведение терапевтической коррекции выявленных нарушений (гепаринопрофилактика, ППК сосудов верхних конечностей) позволило значительно увеличить частоту положительных исходов ЭКО. В частности, комбинирование вазокомпрессии с профилактическими дозами низкомолекулярного гепарина привело к увеличению числа эпизодов наступления беременности в наиболее проблемной группе пациенток в 6,5 раза (с 7,1 до 45,9%). Данный результат явился следствием целенаправленной и дифференцированной коррекции состояния тромботической готовности в ходе ЭКО. Предложенный нефармакологический подход для активации фибринолиза продолжает изучаться в разных клинических ситуациях и имеет широкие перспективы к применению в различных областях медицины,

Таким образом, за последние пять лет в направлении эволюции представлений о тромбофилии сотрудниками Алтайского филиала ГНЦ получены новые результаты и произведены следующие разработки:

- установлены новые классификационные критерии факторов тромбогенного риска, состояния тромботической готовности и тромбофилии, закономерно предшествующих тромбозам. Использование их в клинической практике позволит избежать распространенной сегодня в широкой клинической практике гипердиагностики тромбофилии и неправомерного назначения лекарственных препаратов;
- начата реализация перспективного проекта по первичной тромбопрофилактике у детей, проживающих на территории Алтайского края. В его основу положены новая классификация факторов тромбогенного риска по длительности их действия и способности к коррекции, а также критерии распознавания состояния тромботической готовности, возникновение которого дает основание для старта медикаментозной тромбопрофилактики артериальных и венозных тромбозов;

разработаны подходы к уменьшению осложнений и неудач при оказании двух высокозатратных видов медицинской помощи - артропластике тазобедренного сустава и экстракорпоральном оплодотворении, внедрение которых повысит их результативность.

Заключение

В понимании проблемы тромбофилии могут и должны произойти серьезные перемены, призванные повысить значимость этого важного понятия в оказании помощи больным или фенотипически здоровым людям в профилактике и лечении артериальных и венозных тромбозов, содействуя тем самым уменьшению смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

Состояние тромботической готовности — возможности современной диагностики и перспективы

А. П. Момот, д.м.н., проф., директор
И. А. Тараненко, к.м.н., ст. научный сотрудник
Л.П. Цывкина, д.м.н., проф., ст. научный сотрудник

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

ГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Thrombotic state of readiness - the possibilities of modern diagnostics and prospects
A. P. Momot, I. A. Taranenko, L.P. Tsyvkina
Altai Branch of FSBI Hematological Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul SBEI, the Altai State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul


А. П. Момот

Резюме
В статье приводятся новые взгляды на *факторы* тромбогенного риска, состояние тромботической готовности и *тромбофилию. На* основании собственных исследований определена роль этих понятий в объяснении возникновения артериальных и венозных *тромбозов.* Выполнен краткий *обзор* современных лабораторных методов оценки состояния тромботической готовности.
Ключевые слова: **факторы тромбогенного риска, тромбофилия, состояние тромботической готовности, лабораторные методы исследования системы гемостаза.**

Summary
The *article provides* new *insights on thrombogenic risk factors, thrombotic state of readiness* and thrombophilia. *Based on our own* research the role of these concepts *is* determined explaining *the occurrence of arterial and* venous *thrombosis. A brief* overview of *current laboratory* methods of state values of *thrombotic state of readiness* is *fulfilled.*
Key words; ***thrombogenic risk factors, thrombophilia, thrombotic state of* readiness, *laboratory methods of hemostasis.***

Современный уровень исследования системы гемостаза принципиально отличается от методических подходов второй половины XX века: диагностика клинически значимых нарушений гемостаза сегодня включает в себя обособленные группы методов, относящихся как к ***клинико-функциональным*** (проба Айви, манжеточная проба), так и «чисто» лабораторным способам распознавания нарушений свертывания крови, предусматривающим осуществление ***«глобальных» методов*** исследования (компьютерная тромбоэластография, тест генерации тромбина, исследование томбодинамики), агрегометрии тромбоцитов, ***функциональных коагуляционных,*** так называемых «клоттинговых» или «хронометрических» проб (по оценке различных вариантов времени свертывания), ***амидолитических тестов*** с использованием хромогенных субстратов к тромбину, плазмину, фактору Ха, XIIIа, протеину С и др., ***иммунологических методов,*** позволяющих выявить уровень искомого антигена (или антител) при распознавании антифосфолипидного синдрома, гепарин-индуцированной тромбоцитопении II типа, гипергомоцистеинемии, при измерении уровня D-димеров, а также ***генетических методов*** выявления носительства мутаций и полиморфизмов генов — участников системы гемостаза и обмена метионина, предрасполагающих к тромбозу. Последняя группа методов приобрела большую популярность, поскольку данные исследования выполняются однократно на всем протяжении жизни. Однако при изолированном использовании (без определения маркеров реализации генетической предрасположенности и без учета тромботического анамнеза) они недостаточно информативны.

К сожалению, выполнение всех указанных традиционных и новаторских приемов для анализа нарушений в системе гемостаза не укладывается в функциональные обязанности любой современной лаборатории — гемостаза, клинической или биохимической, что является одним из серьезных противоречий в обеспечении потребностей современной медицины в данном виде медицинской помощи больным. Бесспорно, клинически значимое исследование системы гемостаза невозможно провести с помощью одного-двух наиболее современных методов исследования. Применение же комбинаций этих методов эффективно в рамках тех или иных алгоритмов обследования и не столько для статичного описания результатов, но для определения причин кровоточивости и внутрисосудистого тромбообразования, своевременного включения пациентов в группу высокого риска по кровотечениям,

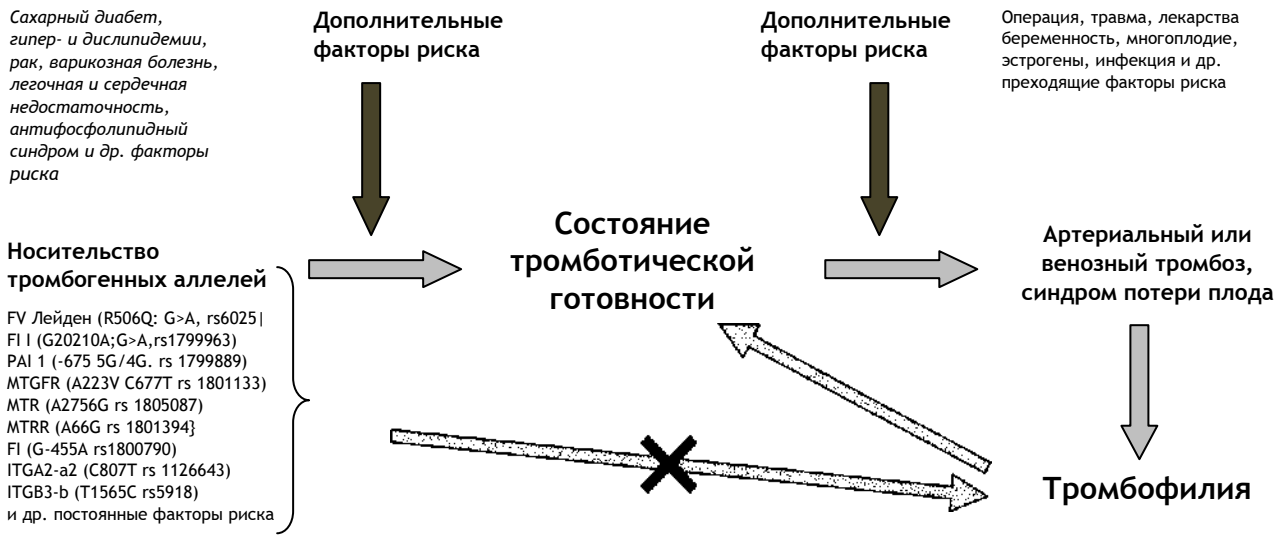


Рис. Связь факторов тромбогенного риска, тромботической готовности и тромбофилии в генезе тромбозов и неудач беременности.

тромбозам и тромбоэмболиям, адекватного контроля за эффективностью и необходимой длительности антитромботической терапии [1, 2].

Одно из важных направлений лабораторной диагностики нарушений гемостаза связано с проблемой «молодеющих» артериальных и венозных тромбозов, массивных тромбоэмболий, являющихся ведущей причиной снижения качества жизни, инвалидизации и летальности среди людей развитых стран мира. Больные с сосудистой ишемией и (или) окклюзией нуждаются в определении спектра лабораторных биомаркеров, указывающих не столько на наличие тех или иных врожденных или приобретенных факторов тромбогенного риска/тромбофилии, сколько на выявление состояния тромботической готовности, предшествующего и закономерно сопутствующего сосудистым катастрофам [3].

По опыту работы нашего центра и практике общения со специалистами — врачами различного профиля — можно констатировать неоднозначность трактовки и путаницу в понятиях «тромбофилия», «факторы тромбогенного риска» и «состояние гиперкоагуляции». Частое заблуждение среди клиницистов сегодня — замена понятия «фактор (или факторы) тромбогенного риска» на понятие «тромбофилия». Иными словами, носительство той или иной известной протромбоген- ной мутации или полиморфизма генов (участников гемостатических реакций и обмена метионина), как правило, рассматривается и диагностируется как тромбофилия, нанося моральный и иной вред пациентам (см. рис.). К сожалению, свой вклад вносит и неправомерное использование во врачебных заключениях слова «мутация» при определении полиморфизмов (а значит, вариантов нормы, по современным представлениям) ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI 1), метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), фибриногена, рецептора тромбоцитов GP IIIA и ряда других.

В ходе клинико-генетических исследований, проведенных в период 2010-2012 гг. нашим центром совместно с лабораторией фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (заведующий к. б. н. М. Л. Филипенко) и кафедрой педиатрии Алтайского государственного медицинского университета, в случайной выборке у 1915 жителей Алтайского края кавказской расы* без явных признаков соматической патологии, носительство хотя бы одной из четырех наиболее известных тромбогенных мутаций и полиморфизмов и цитируемых большинством авторов публикаций [FV Лейден (R506Q; G > A), F II (G20210A; G > A), PAI-1 (675; 5G/4G), MTHFR (A223V C677T; C > T)] установлено в 91,8 % случаев [3, 4]. Но это не значит, что все эти люди «страдают» тромбофилией и их необходимо лечить.

Остановимся на современных критериях диагностики одной из известных форм тромбофилии — анти фосфолипидного синдрома (АФС). Согласно рекомендациям Международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH), диагноз АФС считается достоверным при сочетании хотя бы одного или более клинических проявлений данной патологии (сосудистый тромбоз, патология беременности) с результатами специальных лабораторных признаков (эффекты волчаночного антикоагулянта, антифосфолипидные антитела в диагностическом титре) [5]. Мы считаем возможным и необходимым распространить данный подход в диагностическую практику (обязательное сочетание тех или иных факторов риска наряду с состоявшимся тромбозом или синдромом потери

*Примеч. авторов: речь идет об обследовании лиц европеоидной расы, обозначаемой в зарубежных изданиях и посвященных генетике, как Caucasian («кавказская»). В число обследованных не вошли представители монголоидной расы, проживающие на территории Горного Алтая, что существенно для оценки результатов.

плода) на все возможные варианты тромбофилии, что позволит устранить терминологическую путаницу и системные ошибки в диагностике и определении тактики лечения.

Очевидно, что ***тромбофилии,*** по существу, не является болезнью, а представляет собой патологическое состояние, обусловленное комбинацией факторов риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), информация о котором (которых) может быть получена по данным индивидуального анамнеза и соответствующей медицинской документации. Понимание и принятие данного положения имеет принципиально важное значение, поскольку восприимчивость к болезни не подразумевает под собой наличие показаний для медикаментозной тромбопрофилактики или проведения антитром ботической терапии. Необходимо различать понятия «фактор тромбогенного риска» и «тромбофилия». Большинство людей — носителей постоянных или временных факторов риска тромбоза, им не страдают на протяжении длительного периода жизни, хотя и имеют вероятность развития этой патологии [6,7]. Учитывая многолетний опыт мы считаем, что к ***факторам тромбогенного риска*** следует относить постоянные (генетически обусловленные) и временные (вторичные, действующие в определенный промежуток времени) индивидуальные особенности человека, беременность и внешние воздействия*, способные в различных сочетаниях привести к развитию тромботической готовности и в последующем к появлению тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов, серьезным и известным проблемам в области репродукции человека.

В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска, способных самостоятельно или чаще в своих сочетаниях привести к сосудистой катастрофе. К числу наиболее значимых факторов тромбогенного риска относятся:

- личный и семейный тромботический анамнез;
- глубокий дефицит физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, витамин К-зависимых протеинов С, S, ингибитора внешнего пути свертывания —TFPI);
- образование в крови антифосфолипидных антител, в том числе обладающих свойствами волчаночного антикоагулянта;
- мутации и полиморфизмы генов — участников гемостатических реакций (FV Лейден, F II, PAI-1, полиморфизм генов, участвующих в обмене метионина);
- стойкое увеличение концентрации и (или) активности факторов свертывания крови: фибриногена, факторов II, VIII, IX или XI;
- ряд гематологических заболеваний, сопровождающихся патологией эритроцитов и тромбоцитов (врожденные полиглобулии,серповидноклеточная анемия, талассемия, синдром «липких» тромбоцитов);
- сосудистые аномалии (мальформации, артерио-венозные шунты, варикозная болезнь, повышенная извитость сонных артерий и др.), врожденные пороки сердца;
- наличие инородных тел в сердце и сосудах (протезы клапанов, стенты, фильтры, катетеры);
- тяжелые травмы и операции, сопутствующая гиподинамия и инфекционно-воспалительные процессы;
- злокачественные новообразования.

Термины «тромбофилия» и «повышенная свертываемость крови» часто используют как синонимы, в то время как на самом деле это понятия различны. Повышенная свертываемость крови или «гиперкоагуляционный синдром/состояние» — это лабораторный феномен, посредством которого специальными методами анализа системы гемостаза распознаются активация тромбоцитов и процессы образования фибрина, подавление фибринолитических реакций, повреждение эндотелия кровеносных сосудов.

Однако на практике повышенная склонность к тромбообразованию может сопровождаться парадоксальным, на первый взгляд, замедлением свертывания крови в связи с выработкой антифосфолипидных антител/волчаночного антикоагулянта или дисфибриногенемией при развитии варфариновых некрозов кожи или гепарин-индуцированной тромбоцитопении. Эти состояния противоречат смыслу терминов «гиперкоагуляционный синдром/состояние» и делают их несостоятельными и устаревшими [2, 3].

Нами предлагается альтернативное, клинически оправданное понятие — ***состояние тромботической готовности,*** которое способно объединить в себе лабораторно выявляемую гиперкоагуляцию, высокий уровень маркеров внутрисосудистого свертывания крови, а также ряд клинических признаков предтромбоза (увеличение вязкости крови, замедление кровотока по данным дуплексного ангиосканирования венозного кровотока, перманентные признаки органной дисфункции, тромбирование иглы при венепункции, нарушение фетоплацентарного кровотока, гипотрофия плода, нарушение сроков миграции или частичная отслойка плаценты и др.). Соответственно, реализация этой готовности при сохраняющихся факторах риска и их умножении (операцией, травмой, иммобилизацией, системным воспалительным процессом, онкологическим заболеванием, сахарным диабетом, сердечной недостаточностью, приемом эстрогенов, поздним сроком беременности) с высокой вероятностью способна проявиться сосудистой катастрофой [3].

Состояние тромботической готовности обычно формируется при кооперации различных факторов тромбогенного риска и непосредственно предшествует тромбозу или сопровождает его при неэффективности антитромботической терапии. При этом генетическая детерминированность не означает обязательную ее реализацию в данный момент времени в тех или иных сдвигах, способствующих тромбозу или

неудачам репродукции [8-10]. Так, мутация FV Лейден не обязательно проявляется тромбинемией и (или) повышением уровня D-димеров, полиморфизм генов, участвующих в обмене метионина,— повышением уровня го- моцистеина, а редкая гомозигота гена PAI I — повышением активности PAI I и угнетением фибринолитических реакций. Можно ожидать высокой вероятности этих событий, но когда и в какой мере — не поддается прогнозу и зависит от дополнительных факторов риска в тех или иных случаях, например, при обезвоживании или дистрессе.

С практической точки зрения, учитывая современные возможности клинико-диагностических лабораторий и наш опыт работы, можно считать необходимым определение следующих показателей тромбогенной опасности: повышения уровня маркеров тромбинемии и активации тромбоцитов, гипергомоцистеинемии, проявлений эндотелиопатии, полиглобулии, а также нарастания уровня С-реактивного белка как интегрального маркера воспалительной реакции, связанной с реакциями гемостаза [11-13]. Возможности совершенствования этого направления лабораторных исследований чрезвычайно интересны в связи с появлением новых подходов к лабораторной диагностике нарушений гемостаза. В этом направлении большие перспективы имеет тест калиброванной тромбографии (тест генерации тромбина), позволяющий с высокой точностью измерять динамику как образования, так и инактивации тромбина — ключевого формента свертывания крови [14-16]. Данный тест реагирует на любые посылы к активации свертывания крови и в связи с этим носит интегральный характер.

Другой новый метод исследования — оценка пространственной динамики роста сгустка фибрина (тромбодинамика) — был разработан в лаборатории физической биохимии Гематологического научного центра РАМН и описан в ряде фундаментальных и прикладных работ [17, 18]. Анализ проводится в тонком слое плазмы, свертывание в которой активируется тканевым фактором, фиксированным с одной из сторон измерительной кюветы. В ходе исследования ведется фотосъемка растущего сгустка фибрина, параметры которого позволяют судить о динамике фибринообразова- ния во времени и пространстве в двух системах координат [19]. В настоящее время анализатор «ТромбоИмиджер-2» для оценки пространственной динамики роста сгустка фибрина и расходные материалы к нему (разработанные ООО «ГемаКор») проходят клиническую апробацию в российских клинических центрах, в том числе и на базе Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» в рамках направлений, связанных с изучением эффективности тромбопрофилактики после эндопротезирования суставов и особенностей гемостатических реакций на разных сроках физиологически протекающей беременности.

В заключение отметим принципиальную значимость определения состояния тромботической готовности у носителей постоянных факторов риска, прежде всего у больных тромбофилией, поскольку тромбинемия, депрессия физиологических антикоагулянтов и фибринолиза, наряду со стазом и повреждением сосудистой стенки, предопределяют близкий и далеко не всегда клинически видимый тромбоз. Широкое внедрение лабораторных технологий определения этого состояния позволит получать объективные предпосылки для начала проведения медикаментозной тромбопрофилактики, определения ее необходимой длительности, надежного контроля эффективности лечебно-профилактических мероприятий.

Список *литературы*

1. *Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. 3-е изд. М.: Ньюдиамед; 2008.292 с.*
2. *Момот А. П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Форма Т; 2006. 208 с.*
3. *Момот А. П. ред., Цывкина Л.П., Тараненко И. А., Мамаев А. Н., Сердюк Г. В., Шахматов И. И. и др. Соеременные методы распознавания состояния тромботической готовности. Барнаул: изд-ео Алтайского государственного университета; 2011. 136 с.*
4. *Строзенко Л. А., Момот А, П., Лобанов Ю. Ф., Тараненко И. А., Сердюк Г. В. Факторы тромбогенного риска и состояние здоровья подростков г. Барнаула. Медицина и образование в Сибири: электронный научный журнал. 2012; 2:http://www. ngmu.ru/cozo/mos/article/text_ full. php?id=6832*
5. *Harris E., Pierangeli S. Primary, secondary and catastrophic antiphospholipid syndrome: what's in a name. Semin Thromb Hemost. 2008; 34:219-26.*
6. *Bovill E., Hasstedt S., Leppert M. et al. Hereditary thrombophilia as a model for multigenic disease. Thromb Haemost. 1999; 82:662-6;*
7. *Makris M. Thrombophilia: grading the risk. Blood. 2009; 113(21): 5038-9.*
8. *Момот А. П., Лыдина И. В., Борисова О. Г., Елыкомов В. А., Цывкина Л. П. Экстракорпоральное оплодотворение и управление гемостазом. Проблемы репродукции. 2012; 6: 47-55.*
9. *Момот А. П., Сердюк Г. В., Григорьева Е. Е., Селиванов Е. В., Николаева М. Г., Гурьева В. А. Невынашивание беременности и генетически обусловленные тромбофилии. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Медицина. Акушерство и гинекология». 2009;6:379-84.*
10. *Трифонова Е. А.. Гобидулина Т. В., Агаркова Т. А. Габитова Н. А., Степанов В. А. Гомоцистеин, полиморфизмы гена MTHFR и осложнения беременности. Акушерство и гинекология. 2011;2: 8-15.*
11. *Петрищев Н.Н., ред. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: СПбГМУ; 2003. 184 с.*
12. *Шойхет Я.Н., Момот А. П. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей. Проблемы клинической медицины. 2008; 4 (16): 102-17.*
13. *Schouten M., Wiersinga W., Levi M., van der Poll T. Inflamation, endothelium, and coagulation in sepsis. J Leukoc Biol. 2008; (suppl.3): 536-545.*
14. *Момот А. П., Лыдина И. В., Цывкина Л. П., Борисова О. Г. Роль теста генерации тромбина и некоторых маркёров тромбинемии для прогноза исходов экстракорпорального оплодотворения. Гемостазиология. 2011; 2: 80-84.*
15. *Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., De Smedt E., Wagenvoord R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. Pathophysiol Haemost Thromb. 2003; 33: 4-15.*
16. *Hemker H. C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., De Smod E., Wagenvoord R. et al. The calibrated automated lhrombogramm (CAT):a universal routine test for hyper-and hypocoagolability. Pathophysiol Haemost Thromb. 2002; 32 (5-6): 249-53.*
17. *Синауридзе Е. И., Буланов А. Ю., Щербакова О. В., Горбатенко А. С., Атауллаханов Ф.И. Усиление коагуляции, вызываемое переливанием искусственных плазмозамещающих растворов. Терапевтический архив. 2009; 81 (1): 52-5.*
18. *Ovaneson M., Panteleev M., Sinauridze E., Kireev D., Plyushch O., Kopylov K. et al. Mechanism of action of recombinant activated factor VII in the context of tissue factor concentration and distribution. Blood Coagul. Fibrinolysis. 2008; 19 (8): 743-755.*
19. *Пантелеев М. А., Васильев С. А., Синауридзе Е. И., Воробьев А. И., ред., Атауллаханов Ф.И. Практическая коагулология. М.: Практическая медицина; 2011. 192 с.*

ВРОЖДЕННЫЕ И ПРИОБРЕТЕННЫЕ ФАКТОРЫ ТРОМБОГЕННОГО РИСКА У ДЕВУШЕК-ПОДРОСТКОВ - ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

Л.А. Строзенко, Л.Н. Клименов, Ю.Ф. Лобанов
Кафедра педиатрии № 2
Алтайский государственный медицинский университет Росздрава
пр. Ленина, 40, 656038 Россия, Алтайский край, Барнаул
Г.В. Сердюк, А.П. Момот
Алтайский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения
«Гематологический научный центр», Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации
ул. Ляпидевского, 1, 656024 Россия, Алтайский край, Барнаул
М.Л. Филиппенко
Лаборатория фармакогенетики Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск
пр. Ленина, 40, 656038 Россия, Алтайский край, Барнаул

В исследование были включены 314 девушек-подростков, 15-16 лет, учениц 9— 11 классов школ Индустриального района г. Барнаула, средний возраст которых составил 15,4 ± 1,9 года. У всех подростков в случайной выборке было изучено носительство полиморфизмов ингибитора тканевого активатора плазминогена I типа - SERPINE1 (-675 4G/5G), NCBI SNP-rs 1799889; протромбина - F2 (20210G/A), NCBI SNP-rs 1799963; фактора V Leiden- F5 (Arg506Gln), NCBI SNP-rs6025 и полиморфизма гена метилентетра- гидрофолатредуктазы- MTHFR (Ala222Val), NCBI SNP-rs 1801133, обусловливающих склонность к развитию тромбозов. Помимо генетического исследования были проведены клинический осмотр и анкетирование подростков (по установленной в проекте Регистра форме). Установлено, что встречаемость аллельных полиморфизмов в данной выборке у девушек-подростков, проживающих в Алтайском крае, составляет 92,4%, сочетание 2 из них - у 38,2% и 3 - лишь у 2,9% школьниц. С учетом данных анкетирования были определены дополнительные критерии для окончательного отбора в группу высокого тромбогенного риска. В результате в эту группу были включены 15 девушек-подростков, или 4,8% от числа обследованных. Таким образом, предложенный подход к формированию группы высокого тромбогенного риска с учетом как врожденных, так и приобретенных факторов, может способствовать генетически обоснованной популяционной профилактике тромбозов различной локализации, в том числе при планировании и вынашивании беременности, приеме эстрогенсодержащих препаратов.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, тромбофилия, девушки-подростки, первичная профилактика

CONGENITAL AND ACQUIRED THROMBOGENIC RISK FACTORS IN ADOLESCENT GIRLS - TEENAGERS OF ALTAI REGION

L.A. Strozenko, L.N. Klimenov, Y.F. Lobanov

Department of Pediatrics № 2 State comprehensive institutions of higher edu cation (Altai State Medical University)
Federal Agency for Healthcare and Social Development of the Russian Federation (Barnaul)
Lenina Ave, 40, 656038 Russia, Altai Region, Barnaul
G.V. Serdyuk, A.P. Momot
Department of Health and Social Development of Russian Federation Altai branch of the Federal State Budget Institution
Hematology Research Center *Liapidevskogo Str., 1, 656024 Russia, Altai Region, Barnaul*
M.L. Filipenko
Laboratory of Pharmacogenetics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SD RAMS, Novosibirsk *Lenina Ave., 40, 656038 Russia, Altai Region, Barnaul*

The study included 314 adolescents, aged 15-16, students in grades 9-11 schools Industrial district of Barnaul, whose average age was 15,4 ± 1,9 years. All the teens in the random sample was studied carrier polymorphisms of tissue plasminogen activator inhibitor type-I- SERPINE1 (-675 4G/5G), NCBI SNP-rs 1799889; prothrombin-F2 (20210G / A), NCBI SNP-rsl799963; factor V Leiden-F5 (Arg506Gln), NCBI SNP-rs6025, and gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase-MTHFR (Ala222Val), NCBI SNP-rsl801133, causing a tendency to develop thrombosis. In addition to genetic studies were carried out clinical examination and questioning teens (as set out in draft form Register). Established that the incidence of allelic polymorphisms in this sample of adolescent girls living in the Altai region is 92,4%, a combination of 2 of them - at 38,2% and 3 - only at 2,9% of schoolgirls. In view of these questionnaires have been determined, additional criteria for final selection at high thrombogenic risk. As a result, this group included 15 adolescent girls, or 4,8% of those surveyed. Thus, the proposed approach to the formation of a high thrombogenic risk taking into account both congenital and acquired factors may contribute to genetic population-based prevention of thrombosis various sites, including the planning and carrying a pregnancy, taking estrogen-containing drugs.

Key words: genetic polymorphisms, thrombophilia, girls-youth, primary prevention.

Нарушение механизмов, обеспечивающих равновесие в системе гемостаза, при участии врожденных и приобретенных факторов тромбогенного риска, способно привести к развитию тромбозов и тромбоэмболических осложнений, к так называемому состоянию тромбофилии. Под ними, как известно, понимают склонность к раннему формированию и рецидивированию тромбозов различной локализации [1; 3; 8].

В настоящее время выделяют генетически обусловленные (наследственные) и приобретенные формы тромбофилии. К приобретенным формам относят антифосфолипидный синдром (АФС), к наследственным - состояния с установленными генетическими отклонениями. В их число входит ряд мутаций и полиморфизмов генов: ингибитора тканевого активатора плазми- ногена I типа - SERPINE1 (-675 4G/5G), NCBI SNP-rs 1799889; протромбина - F2 (20210G/A), NCBI SNP-rs 1799963; фактора V Leiden-F5 (Arg506Gln), NCBI SNP-rs6025, и полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы - MTHFR (Ala222Val), NCBI SNP-rs1801133 [6].

Установлена важная роль указанных выше аллельных полиморфизмов в патогенезе многих акушерских осложнений, включая самопроизвольный и привычный аборт, задержку развития и антенатальную смерть плода, преэк- лампсию, преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты, HELLP-синдром и др. [4; 7].

Существует достаточно мало данных в литературе, описывающих роль наследственных факторов риска в развитии тромбозов у детей, хотя проблемы ранних тромботических эпизодов стали встречаться в детском и подростковом возрасте достаточно часто. В то же время достоверные сведения о носительстве тромбогенных полиморфизмов, как в популяции Алтайского края, так и в России, скудны и практически отсутствуют. Исследования распространенности тромбогенных полиморфизмов у девушек-подростков видятся перспективными еще и потому, что в этом возрасте, довольно часто, рекомендуется прием комбинированных оральных контрацептивов, что значительно повышает риск тромботических заболеваний, особенно при наличии врожденных факторов тромбогенного риска [2; 5; 9].

Цель исследования: изучить распространенность врожденных факторов тромбогенного риска у подростков - жителей Алтайского края и с учетом данных анкетирования сформировать критерии отбора в группу высокого тромбогенного риска.

Материал и методы. Проанализированы результаты профилактических осмотров - 314 девушек-подростков, учениц 9-11-х классов школ Индустриального района г. Барнаула, средний возраст которых составил - 15,4 ± 1,9 года.

Диагностика тромбогенных аллельных полиморфизмов осуществлялась в Лаборатории фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирска. В основе анализа лежал метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RealTime PCR) с использованием конкурирующих TaqMan зондов. Исследование выполнялось сотрудниками Алтайского государственного медицинского университета (кафедра педиатрии № 2) и Алтайского филиала Гематологического научного центра.

Помимо генетического обследования были выполнены клинический осмотр и анкетирование подростков (по установленной в проекте Регистра форме), выборка из амбулаторной карты (форма № 112), консультация узких специалистов - педиатра, хирурга, оториноларинголога, гинеколога, кардиолога, окулиста, невролога, эндокринолога, нефролога.

Данный научно-исследовательский проект был утвержден 29.10.2010 (протокол № 12) и соответствовал этическим стандартам локального Био- этического комитета при Алтайском государственном медицинском университете, разработанными в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты исследования. Исследование показало, что аллельные полиморфизмы в свободной выборке у подростков 15-16 лет, проживающих в Алтайском крае, распределились следующим образом: полиморфизм MTHFR (Ala222Val), генотип C/T, встречался - у 138 (43,9%) подростков, а гомозиготная форма T/T - у 21 (6,7%) девушек; полиморфизм SERPINE1 (-675 4G/5G), гетерозиготный вариант (4G/5G) - у 148 (47,1%), тогда как генотип 4G/4G - у 98 (31,2%) подростков. При сравнительном анализе частоты встречаемости в свободной выборке генотипов и аллелей по полиморфизмам Arg50Gln гена FV и 20210G/A гена FII значимых отличий не найдено (табл. 1).

Таблица 1

Встречаемость тромбогенных полиморфизмов в свободной выборке у девушек-подростков, проживающих в Алтайском крае (n = 314)

Генотип	Полиморфизмы			
	F II (20210G/A)	F V (Arg50Gln)	MTHFR (Ala222Val)	PAI-1 SERPINE1 (-675 4G/5G),
Гомозигота, частый аллель	303 (96,5%)	302 (96,2%)	155 (49,4%)	68 (21,7%)
Гетерозигота	11 (3,5%)	12 (3,8%)	138 (43,9%)	148 (47,1%)
Гомозигота, редкий аллель	0	0	21 (6,7%)	98 (31,2%)
Всего	314	314	314	314

Среди обследованных 314 подростков аллельные полиморфизмы отсутствовали только у 24 (7,6%) девушек. Установлено, что единичный генетический полиморфизм одного из определяемых генов выявлялся - у 161 (51,3%) подростков, 2 - у 120 (38,2%) и 3 полиморфизма - у 9 (2,8%) (табл. 2). Общая частота аллельных полиморфизмов в группе девушек-подростков составила 92,4%.

Таблица 2

Наличие и число тромбогенных аллельных полиморфизмов в свободной выборке у подростков Алтайского края

Полиморфизм	Встречаемость у подростков	
	n	%
1 генетический полиморфизм	161	51,3
2 генетических полиморфизма	120	38,2
3 и > генетических полиморфизма	9	2,9
Гомозигота, частый аллель	24	7,6
Сочетание аллельных полиморфизмов	290	92,4

Нами выявлена, частота сочетаний аллельных полиморфизмов с другими генотипами (табл. 3). Установлено, что наибольшая частота сочетаний - 33,1% определялась при носительстве генотипа MTHFR (Ala222Val) в гетерозиготной форме C/T, тогда как полиморфный вариант SERPINE1 (-675 4G/5G), генотип 4G/5G, лишь в 25,2% случаев.

Таблица 3

Носительство отдельных аллельных полиморфизмов в свободной выборке у подростков Алтайского края

Аллельный полиморфизм	Встречаемость, n (%)	Частота сочетаний с другими полиморфизмами, n (%)
1	**2**	**3**
F5 Arg 506 Gln		
а) гомозигота, редкий аллель (A/A), n (%)	0	0
б) гетерозигота (G/A), n (%)	12 (3,8)	18(5,7)
в) гомозигота, частый аллель (G/G), n (%)	302 (96,2)	288 (91,7)
F2 20210 G/A		
а) гомозигота, редкий аллель (A/A), n (%)	0	0
б) гетерозигота (G/A), n (%)	11 (3,5)	5(1,6)
в) гомозигота, частый аллель (G/G), n (%)	303 (96,5)	286 (91,1)

MTHFR Ala222Val а) гомозигота, редкий аллель (T/T), n (%) б) гетерозигота (C/T), n (%) в) гомозигота, частый аллель (C/C), n (%)	 21 (6,7) 138(43,9) 155 (49,4)	 16(5,1) 104(33,1) 132(42,0)
SERPINE1 -675 5G/4G а) гомозигота, редкий аллель (4G/4G), n (%) б) гетерозигота (4G/5G), n (%) в) гомозигота, частый аллель (5G/5G), n (%)	 98 (31,2) 148(47,1) 68 (21,7)	 46 (14,6) 79 (25,2) 44 (14,0)

По результатам генетического исследования нами были выделены две подгруппы детей с врожденными факторами тромбогенного риска и определены основные критерии предварительного отбора в эти подгруппы:

- *1 подгруппа (относительно низкий риск):*

а) наличие изолированной мутации F5 (Arg506Gln) (G/A) или F2 (20210G/A) (G/A), или ее комбинация с одним из двух полиморфизмов MTHFR (Ala222Val) (C/T, T/T), SERPINE1 (-675 4G/5G) (5G/4G,4G/4G);

б) носительство полиморфизма MTHFR (Ala222Val) (T/T).

- *II подгруппа (высокий риск):*

а) наличие 3 и более мутаций и полиморфизмов;

б) носительство ассоциации полиморфизмов MTHFR (Ala222Val) (T/T), SERPINE1 (-675 4G/5G) (4G/4G).

По представленным выше критериям в обе подгруппы были отобраны 42 девушки-подростка, или 13,4% от числа обследованных. Во вторую подгруппу включены 13 человек (4,2%).

Для окончательного формирования группы высокого тромбогенного риска учитывались не только врожденные предрасполагающие факторы, но и данные анкеты с информацией о личном и семейном тромботическом анамнезе, наличии соматической патологии или других временных факторов риска - курение, занятие игровыми видами спорта, прием эстроген-содержащих контрацептивов, хроническая инфекция, полиглобулия и др.

Всем факторам риска при их наличии согласно данным анкеты присваивался 1 балл, а при наличии отягощенного личного или семейного тромботического анамнеза - 2 балла. Подростки из первой подгруппы, у которых были определены 3 балла и более, переводились во вторую или основную подгруппу. В итоге была окончательно обозначена группа высокого тромбогенного риска, требующая повышенного внимания специалистов, лабораторного обследования и диспансерного наблюдения (табл. 4).

Таким образом, предложена и апробирована методология формирования группы высокого тромбогенного риска у девушек-подростков с учетом носительства как врожденных, так и приобретенных факторов риска, что позволит наметить пути к генетически обоснованной первичной тромбопрофилактике в онтогенезе, включая дачу рекомендаций относительно режима,приема медикаментов, диеты и образа жизни.

Таблица 4

Уточнение и окончательное формирование группы тромбогенного риска у девушек-подростков пубертатного периода с учетом данных анамнеза, выявленных по результатам анкетирования

Факторы	**I подгруппа (относительно низкий риск) n(%)**	**II подгруппа (высокий риск) n(%)**	**Уточненная группа высокого тромбогенного риска n(%)**
Всего:	29 (9,2)	13 (4,2)	15(4,8)
-из них с неуправляемыми факторами риска	2 (6,9)	1 (7,7)	3 (20,0)
-с управляемыми факторами риска	27 (93,1)	12 (92,3)	12 (80,0)

ФАКТОРЫ ТРОМБОГЕННОГО РИСКА И СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ Г. БАРНАУЛА

Л.А. Строзенко[1], А.П. Момот[2], Ю.Ф. Лобанов[1], И.А. Тараненко[2], Г.В. Сердюк[2]

[1]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития (г. Барнаул)
[2]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России (г. Барнаул)

У 1099-ти подростков 15–16 лет, учащихся школ г. Барнаула, определено носительство маркеров наследственных тромбофилических состояний: мутаций в гене фактора V (FV Leiden); в гене фактора II-протромбина (20210G/A); полиморфизмов генов метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР С677Т) и ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-675 4G). Встречаемость тромбогенных полиморфизмов у подростков составила 91,3 %, сочетание двух из них — у 37,8 % и трех — лишь у 2,3 %. С учетом результатов анкетирования установлены критерии окончательного отбора в группу высокого тромбогенного риска, выделение которой будет способствовать организации генетически обоснованной популяционной профилактики тромбозов различной локализации.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, тромбогенный риск, тромбофилия, подростки, первичная тромбопрофилактика, состояние здоровья.

Введение. Начиная с середины прошлого века, ведутся активные поиски причин наследственных тромботических заболеваний. С развитием молекулярной генетики стало возможным картировать гены белков, участвующих в процессах свертывания [1]. По современным представлениям выделяют генетически обусловленные (наследственные) и приобретенные факторы тромбогенного риска, которые при наличии установленных эпизодов тромбоза рассматриваются как тромбофилии. К приобретенным формам тромбофилии относят антифосфолипидный синдром, к наследственным — состояния с установленными генетическими отклонениями [2].

В литературе имеется мало данных, описывающих роль наследственных факторов риска в развитии тромбозов у детей. Однако проблема ранних тромботических эпизодов стала встречаться в детском и подростковом возрасте достаточно часто [2]. В то же время, достоверные сведения о носительстве тромбогенных полиморфизмов в различных регионах России крайне малочисленны. Исследование распространенности тромбогенных мутаций и полиморфизмов у подростков является перспективным еще и потому, что довольно часто рекомендуется девушкам прием комбинированных оральных контрацептивов. Кроме того, поведенческие установки подростков характеризуются увеличением у них дезадаптивных форм поведения (алкоголизация, табакокурение), что повышает риск тромботических заболеваний, особенно при наличии врожденных факторов тромбогенного риска [3–5].

Цель исследования: установить распространенность наследственных факторов тромбогенного риска у подростков г. Барнаула и с учетом данных анкетирования сформировать группу высокого тромбогенного риска.

Материалы и методы. Проанализированы результаты профилактических осмотров — 1099-ти подростков, из них девушек — 522; юношей — 577, учащихся 9–11 классов школ г. Барнаула, средний возраст которых составил 15,4 ± 1,4 года.

Диагностика тромбогенных мутаций и полиморфизмов осуществлялась в Лаборатории фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирска, посредством метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) с использованием конкурирующих TaqMan зондов. Клинические исследования выполнялись сотрудниками АГМУ и Алтайского филиала ГНЦ. Кроме генетического обследования проводились клинический осмотр и анкетирование подростков (по установленной в проекте Регистра форме), выборка из Истории развития ребенка (форма № 112/у), а также консультации «узких» специалистов.

Данный научно-исследовательский проект был утвержден 29.10.10 (протокол № 12) и соответствовал этическим стандартам локального Биоэтического комитета при Алтайском государственном медицинском университете. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты исследования. Выявленные отклонения в случайной выборке у подростков 15–16 лет распределились следующим образом: полиморфизм *MTHFR*(Ala222Val), генотип С/Т, встречался — у 442-х (40,2 %) подростков,

а гомозиготная форма T/T — у 100 (9,1 %); полиморфизм *SERPINE-1 (—675 4G/5G)*,гетерозиготный вариант (4G/5G) — у 509-ти (46,3 %), тогда как генотип 4G/4G — у 358-ми (32,6 %) подростков. Частота гетерозиготных (G/A) вариантов полиморфизмов Arg50Gln гена FV и 20210G/A гена FII встречалась у 3,0 и 2,3 % подростков соответственно.

При анализе частоты встречаемости мутаций и полиморфизмов с учетом половых различий установлено, что мутация FII (20210G/A) частый гомозиготный аллель с большей частотой определялся у юношей (p = 0,050), гетерозиготная форма этой мутации имела место преимущественно у девушек (p = 0,050). Мутация FV Leiden (Arg506Gln) и полиморфизм MTHFR (Ala222Val) выявлялся с одинаковой частотой у юношей и девушек, генетический полиморфизм SERPINE 1 (—6754G/5G) в редкой гомозиготной форме чаще встречался у юношей (p = 0,050). Результаты молекулярно-генетического исследования показали отсутствие искомых мутаций и полиморфизмов лишь у 96-ти (8,7 %) подростков, единичный генетический полиморфизм одного из определяемых генов выявлен у 562-х (51,1 %), 2 — у 416-ти (37,9 %) и 3 — у 25-ти (2,3 %) обследованных, общая частота встречаемости генетических находок, имеющих отношение к повышению риска тромбоза, составила 91,3 % (табл. 1).

Таблица 1

Распределение генетических полиморфизмов у подростков с учетом половых различий (n = 1099)

Полиморфизмы		Девушки (n = 522)	Юноши (n = 577)	Pφ
Фактор II	20210 G/G	504 (96,6)	568 (98,4)	0,050
	20210 G/A	18 (3,4)	9 (1,6)	0,050
	20210 A/A	0	0	–
Фактор V	1691 G/G	507 (97,1)	559 (96,9)	0,104
	1691 G/A	16 (3,1)	18 (3,1)	–
	1691 A/A	0	0	–
MTHFR	677 C/C	264 (50,6)	293 (50,8)	–
	677 C/T	213 (40,8)	229 (39,7)	0,710
	677 T/T	45 (8,6)	55 (9,5)	0,600
PAI-1 (SERPINE-1)	–675 5G/5G	117 (22,4)	115 (19,9)	0,320
	–675 4G/5G	250 (47,9)	259 (44,9)	0,290
	–675 4G/4G	155 (29,7)	203 (35,2)	0,050

Статистика: φ — угловое преобразование Фишера; в скобках — %.

С учетом числа выявленных полиморфизмов были разработаны следующие критерии предварительного отбора подростков в группу высокого тромбогенного риска (ВТР) [5]:

I группа
— наличие изолированной мутации *F5* (G/A) или *F2* (G/A) или ее комбинация с одним из двух полиморфизмов — *MTHFR* (C/T, T/T) или *SERPINE-1* (5G/4G,4G/4G);
— носительство редкой гомозиготы полиморфизма *MTHFR* (T/T).

II группа
— наличие трех и более мутаций и полиморфизмов;
— носительство двух редких полиморфизмов: *MTHFR* (T/T), *SERPINE-1* (4G/4G).

По представленным выше критериям были отобраны 107 подростков, данные по которым были подвергнуты дальнейшему анализу. Интересно, что у девушек факторы тромбогенного риска (I группа) выявлены у 54-х (10,3 %), у юношей — у 53-х (9,2 %). Во II группу были включены 50 подростков (4,5 %).

Для окончательного формирования группы ВТР учитывались не только врожденные предрасполагающие факторы, но и данные анкет с информацией о личном и семейном тромботическом анамнезе, наличии соматической патологии или других временных факторов риска, к которым были отнесены занятия игровыми видами спорта, наличие хронической инфекции и др. По результатам анкетирования подростков установлено, что семейный тромботический анамнез чаще выявлялся у девушек (p = 0,0001). В структуре соматической патологии такие заболевания, как бронхиальная астма (p = 0,002), синдром вегетососудистой дистонии (ВСД) (p = 0,008) преобладали у мальчиков, у девушек чаще определялись заболевания щитовидной железы (p = 0,0002), хронический пиелонефрит (p = 0,0001), хронический гастродуоденит (p = 0,008), миопия (p = 0,020). Повышенная заболеваемость ОРВИ также зафиксирована в группе девушек (табл. 2).

Таблица 2

Приобретенные факторы тромбогенного риска у подростков (по данным анкетирования)

Приобретенные факторы риска	Всего (n = 1099)		Девушки (n = 522)		Юноши (n = 577)		p
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	
1. Сколиоз*	521	47,4	254	48,6	267	45,2	0,432
2. Плоскостопие*	426	38,7	196	37,5	230	39,9	0,457
3. Хронические болезни	420	38,2	211	40,4	209	36,2	0,153
4. Вегетососуд. дистония (ВСД)	413	37,6	169	32,4	244	42,3	0,008
5. Нарушение* осанки	341	31	290	55,5	51	8,8	0,000
6. Миопия*	320	29,1	169	32,4	151	26,2	0,020
7. Игровой вид спорта	217	19,7	52	10,0	165	28,6	0,0001
8. Курение	68	6,2	36	6,9	32	5,5	0,381
9. Хронический гастродуоденит	61	5,5	39	7,5	22	3,8	0,008
10. Семейный тромботический анамнез	60	5,4	58	11,1	2	0,3	0,0001
11. Хронический пиелонефрит	41	3,7	34	6,5	7	1,2	0,0001
12. Бронхиальная астма	39	3,5	9	1,7	30	5,2	0,002
13. Остеохондроз	36	3,3	30	5,7	6	1,0	0,0001
14. Часто болеющие ОРВИ	31	2,8	24	4,6	7	1,2	0,001
15. Заболевания щитовидной железы	25	2,3	21	4,0	4	0,7	0,0002

Примечание: *— клинические проявления мезенхимальной дисплазии.

Статистика: точный критерий Фишера.

Временные факторы риска встречались одинаково часто, игровыми видами спорта сравнительно больше занимались юноши (p = 0,0001).

Следующим этапом исследования явилось формирование группы высокого тромбогенного риска с учетом врожденных и приобретенных факторов риска.

Методика: всем перечисленным в табл. 2 факторам риска присваивался 1 балл, а при наличии семейного тромботического анамнеза — 2 балла. Подростки из I группы, у которых были определены 3 балла и более, переводились в основную, II группу тромбогенного риска. В итоге была обозначена группа высокого тромбогенного риска, в которую были включены — 57 (5,2 %) подростков.

Выводы. Таким образом, результаты молекулярно-генетического исследования свидетельствуют о том, что гетерозиготный вариант гена FII (20210G/A) в случайной выборке встречался чаще у девушек, а редкая форма полиморфизма SERPINE-1 (—675 4G/4G) — у юношей. По данным анкетирования, дополнительно выявлено, что у девушек чаще встречались: семейный тромботический анамнез, заболевания щитовидной железы, хронический пиелонефрит, хронический гастродуоденит, нарушения осанки, миопия, у юношей — бронхиальная астма, ВСД. С учетом определенных врожденных и приобретенных факторов тромбогенного риска данная группа подростков требует повышенного внимания специалистов (гематолога, невролога, аллерголога, оториноларинголога и др.), дополнительного лабораторного обследования (с определением маркеров тромбинемии и состояния тромботической готовности) и диспансерного наблюдения.

УДК 616-053.6:616 – 005.6:575

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПОДРОСТКОВ – НОСИТЕЛЕЙ ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ АЛЛЕЛЬНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ

Строзенко Л.А. [2], Гордеев В.В. [2], Лобанов Ю.Ф. [2], Момот А.П. [1], Рябинина Е.А. [2]
1. Алтайский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Гематологический научный центр», Министерство здравоохранения Российской Федерации
2. ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Введение

Повышенный интерес к проблеме изучения качества жизни обусловлен тем, что его показатели отражают состояние здоровья детей и необходимы для интегральной оценки эффективности терапевтических, профилактических и реабилитационных мероприятий [1,2,3]. В доступной литературе мы не нашли работ, посвященных изучению показателей качества жизни подростков с учетом пола и наличия протромботических аллельных полиморфизмов. В настоящее время показано, что состояние тромботической готовности может формироваться и при воздействии на организм чрезмерных по силе либо длительности стрессоров [6]. Поэтому учет особенностей параметров качества жизни подростков - носителей протромботических аллельных полиморфизмов чрезвычайно важен для разработки индивидуальных профилактических и реабилитационных программ [4,5].

Цель исследования: изучить параметры качества жизни подростков с учетом гендерных особенностей и наличия протромботических генетических полиморфизмов.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на базе средних образовательных учреждений г. Барнаула и включало 762 подростка (412 мальчиков и 350 девочек) в возрасте 15-16 лет. Инструментом изучения качества жизни служил общий опросник - Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL^{TM} 4.0) [6], вариант для детей в возрасте от 13 до 18 лет. Перекодирование результатов (перевод необработанных данных в баллы качества жизни) проводилось в лаборатории проблем медицинского обеспечения и качества жизни детского населения Научного центра здоровья детей РАМН (руководитель лаборатории, д-р. мед. наук И.В. Винярская). Диагностика протромботических аллельных полиморфизмов генов MTHFR, FII, FV и PAI-1 осуществлялась в Группе фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Данный научно-исследовательский проект утвержден 29.10.2010 (протокол № 12) и соответствует этическим стандартам локального Биоэтического комитета при Алтайском государственном медицинском университете и «Правилам клинической практики в РФ», утвержденными Приказом МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 266. Перед началом опроса каждый респондент подписал информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка результатов проводилась посредством программы STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., США). Распределение значений количественных показателей оценивали с помощью критерия Шапиро - Уилка. Для каждого показателя вычисляли 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Достоверность различия показателей между 2 группами документировали посредством U-критерия Манна - Уитни и точного критерия Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У 762 подростков было зафиксировано 1035 генетических поломок (у юношей - 559 случаев, у девушек - 476) или 1,4 генетического полиморфизма на одного обследованного.
Распространенность генетических полиморфизмов у подростков с изученными показателями качества жизни демонстрирует таблица 1.

Таблица 1. Распространенность генетических полиморфизмов у подростков с исследованными показателями качества жизни (на 1000 обследованных)

Генетические полиморфизмы	Юноши (n=412)	Девушки (n=350)	ОР	ОШ	*p*
FII 20210 G/G	983,0 (970,5-995,5)	971,4 (954,0-988,9)	1,01 (0,99-1,03)	1,70 (0,64-4,52)	0,330

FII 20210 G/A	17,0 (4,5-29,5)	28,6 (11,1-46,0)	0,59 (0,23-1,55)	0,59 (0,22-1,56)	0,330
FII 20210 A/A	0	0	-	-	-
FV 1691G/G	966,0 (948,5-983,5)	968,6 (950,3-986,9)	1,00 (0,97-1,02)	0,92 (0,41-2,06)	1,000
FV 1691G/A	34,0 (16,5-51,5)	31,4 (13,1-49,7)	1,08 (0,50-2,35)	1,08 (0,49-2,42)	1,000
FV 1691 A/A	0	0	-	-	-
PAI-1-675 5G/5G	196,6 (158,2-235,0)	237,1 (192,6-281,7)	0,83 (0,63-1,09)	0,79 (0,56-1,11)	0,185
PAI-1-675 4G/4G	351,9 (305,8-398,1)	317,1 (268,4-365,9)	1,11 (0,91-1,36)	1,17 (0,86-1,58)	0,318
PAI-1-675 4G/5G	451,5 (403,4-499,5)	445,7 (393,6-497,8)	1,01 (0,86-1,19)	1,02 (0,77-1,36)	0,884
MTHFR 667 C/C	497,6 (449,3-545,9)	462,9 (410,6-515,1)	1,08 (0,93-1,25)	1,15 (0,86-1,53)	0,345
MTHFR 667 T/T	92,2 (64,3-111,7)	82,9 (54,0-111,7)	1,11 (0,70-1,77)	1,12 (0,68-1,86)	0,701
MTHFR 667 C/T	410,2 (362,7-457,7)	454,3 (402,1-506,4)	0,90 (0,77-1,06)	0,84 (0,63-1,11)	0,240

Статистика: точный критерий Фишера; в скобках - 95 % доверительный интервал. ОР - относительный риск, ОШ - отношение шансов.

Из представленной таблицы следует, что у юношей и девушек частота встречаемости отдельных генотипов статистически значимо не различалась. Так, распространенность генетического полиморфизма (-675) 4G/5G гена PAI-1 у юношей составила 451,5 (403,4-499,5)/1000, у девушек - 445,7 (393,6-497)/1000 (p=0,884), при этом ОШ=1,02 (0,77-1,36), z=0,159, p=0,874.

В исследованной выборке подростков не было обнаружено гомозиготных форм полиморфизма G20210A гена протромбина (FII) и полиморфизма G1691A гена V фактора свертывающей системы крови (FV).

Наши исследования гендерных особенностей параметров качества жизни здоровых подростков г. Барнаула выявили, что самые высокие значения показателей по всем шкалам опросника наблюдались у юношей. Эти данные свидетельствуют также о сравнительно низком уровне качества жизни девочек. В связи с этим особый интерес представляло изучение качества жизни подростков с учетом пола и наличия отдельных генетических полиморфизмов в генотипах G20210A гена FII, G20210A гена FV, C677T гена MTHFR и (-675) 4G/5G гена PAI-1. Полученные нами результаты выглядят следующим образом.

У юношей с носительством аллеля 677T гена MTHFR зафиксировано, по отношению к девушкам, статистически значимое преобладание показателей качества жизни по всем шкалам опросника (таблица 2).

Таблица 2. Показатели качества жизни подростков с генотипом C677T гена MTHFR

Показатели качества жизни	**Юноши (n=169)**	**Девушки (n=159)**	***p***
Физическое функционирование	88,4 (86,5-90,2)	79,3 (77,1-8135)	<0,001
Эмоциональное функционирование	79,0 (76,8-81,2)	63,4 (61,0-65,8)	<0,001
Социальное функционирование	92,1 (90,6-93,6)	87,8 (85,8-89,7)	<0,001

Школьное функционирование	73,2 (70,6-75,7)	68,4 (65,9-70,9)	0,018
Психосоциальное здоровье	81,4 (79,8-83,1)	73,0 (71,2-74,8)	<0,001
Общий балл	83,2 (81,6-84,7)	75,5 (73,7-77,2)	<0,001

Статистика: U - критерий Манна - Уитни. В скобках - 95 % доверительный интервал.

Практически аналогичная ситуация наблюдалась у юношей с носительством аллеля 677C гена MTHFR: преобладание параметров качества жизни за исключением школьного функционирования, показатели которого у юношей и девушек не различались и соответственно составили: 73,4 балла; 95 % ДИ от 71,2 до 75,7 балла и 70,7 балла; 95 % ДИ от 68,2 до 73,3 балла (p=0,105).

Вместе с тем у подростков, носителей генотипа 677 (TT) гена MTHFR, статистически значимые различия показателей качества жизни выявлены только для эмоционального благополучия у юношей (73,7 балла; 95 % ДИ от 67,6 до 79,8 балла против 63,1 балла; 95 % ДИ от 55,3 до 70,8 балла - у девушек (*p*=0,036).

Дальнейшее изучение качества жизни с учетом аллельных вариантов C677T гена MTHFR проводилось раздельно у юношей и девушек посредством сопоставления показателей у подростков с генотипами 677 (CC) и 677 (CT) локуса MTHFR. Результаты статистического анализа не выявили различий между группами юношей - носителей генотипов 677 (CC), 677 (CT) и 677 (TT). Аналогичные исследования у девушек позволили констатировать преобладание только показателя эмоционального функционирования в группе с носительством аллеля 677C гена MTHFR: 67,0 балла; 95 % ДИ от 64,5 до 69,4 балла против 63,4 балла; 95 % ДИ от 61,0 до 65,8 балла (*p*=0,050).

Таким образом, представленные выше данные свидетельствуют о том, что у носителей аллельных вариантов 677C и 677T гена MTHFR в основном сохраняются гендерные особенности параметров качества жизни, установленные нами для подростков 15-16 лет г. Барнаула. Вместе с тем в группе носителей генотипа 677 (TT) гена MTHFR наблюдается нивелирование гендерных различий этих параметров.

Исследование качества жизни у подростков с генотипом 20210 (GG) гена протромбина (FII) выявило преобладание у юношей показателей по всем шкалам опросника, что находилось в полном соответствии с установленными ранее гендерными особенностями параметров качества жизни у подростков г. Барнаула (таблица 3).

Таблица 3. Показатели качества жизни по ответам подростков, носителей генотипа 20210 (GG) гена протромбина (FII).

Показатели качества жизни	**Юноши (n=405)**	**Девушки (n=340)**	***p***
Физическое функционирование	89,1 (87,9-90,2)	80,0 (78,5-81,4)	<0,001
Эмоциональное функционирование	78,8 (77,4-80,2)	65,1 (63,4-66,8)	<0,001
Социальное функционирование	91,7 (90,6-92,7)	88,8 (87,5-90,0)	<0,001
Школьное функционирование	73,5 (71,9-75,2)	69,8 (68,0-71,5)	0,002
Психосоциальное здоровье	81,3 (80,2-82,4)	74,5 (73,2-75,7)	<0,001
Общий балл	83,3 (82,3-84,2)	76,6 (75,4-77,8)	<0,001

Статистика: U-критерий Манна - Уитни. В скобках - 95 % доверительный интервал.

В то же время у юношей и девушек с носительством аллеля 20210A гена протромбина (FII) показатели качества жизни статистически значимо не различались. Так, показатель социального функционирования у юношей составил 89,3 балла; 95 % ДИ от 79,1 до 99,1 балла, у девушек - 86,0 баллов; 95 % ДИ от 73,3 до 98,7 балла (*p*=0,922).

Параметры качества жизни юношей и девушек с носительством генотипа 20210 (GA) не отличались от показателей у подростков с генотипом 20210 (GG) гена протромбина (FII). Так, у юношей с генотипом 20210 (GG) гена протромбина (FII) показатель физического функционирования составил 89,1 балла; 95 % ДИ от 87,9 до 90,2 балла, а у юношей с генотипом 20210 (GA) - 89,7 балла; 95 % ДИ от 81,9-97,5 балла (p=0,234). Соответствующие данные у девушек составили 80,0 баллов; 95 % ДИ от 78,5-81,4 балла и 84,0 балла; 95 % ДИ от 71,8 до 96,2 балла (p=0,237).
Таким образом, из представленных выше данных следует, что у юношей и девушек с носительством генотипа 20210 (GG) гена протромбина (FII) соотношение показателей качества жизни соответствовало гендерным особенностям у подростков г. Барнаула. Напротив, у юношей и девушек с наличием генотипа 20210 (GA) гена протромбина (FII) статистически значимых различий параметров качества жизни не выявлено.
Несколько иные результаты получены при изучении показателей качества жизни у юношей и девушек с наличием маркера G1691A гена пятого фактора свертывающей системы крови (FV). Как при генотипе 1691 (GG), так и при генотипе 1691 (GA) гена FV установлено преобладание показателей качества жизни у юношей (таблица 7).

Таблица 4. Показатели качества жизни по ответам подростков с наличием генотипа 1691 (GG) гена FV

Показатели качества жизни	Юноши (n=398)	Девушки (n=339)	*p*
Физическое функционирование	89,1 (87,9-90,2)	80,3 (78,8-81,8)	<0,001
Эмоциональное функционирование	78,6 (77,1-80,0)	64,4 (63,8-67,1)	<0,001
Социальное функционирование	91,6 (90,6-92,7)	88,8 (87,6-90,1)	<0,001
Школьное функционирование	73,2 (71,5-74,9)	70,0 (68,3-71,7)	0,007
Психосоциальное здоровье	81,1 (80,0-82,2)	74,7 (73,4-75,9)	<0,001
Общий балл	83,1 (82,1-84,1)	76,8 (75,6-78,0)	<0,001

Статистика: U-критерий Манна - Уитни. В скобках - 95 % доверительный интервал.

Следует отметить, что у девушек с носительством аллеля 1691A, по отношению к девушкам с носительством аллеля 1691G гена FV и в отличие от юношей, выявлено преобладание показателей эмоционального функционирования (p=0,006), психосоциального здоровья (p=0,021) и общего балла (p=0,020).
Анализ показателей качества жизни подростков с наличием гена PAI-1 позволил констатировать высокие значения у юношей носителей генотипов (-675) 4G/4G, (-675) 4G/5G и (-675) 5G/5G практически по всем шкалам опросника (таблица 5).
Отсутствие статистически значимых различий показателей наблюдалось у подростков с носительством аллелей 4G и 5G гена PAI-1 по социальному (p=0,684) и школьному (p=0,401) функционированию, соответственно.
Сравнительный анализ показателей качества жизни подростков с генотипом (-675) 5G/5G и с носителями генотипов (-675) 4G/4G и (-675) 4G/5G гена PAI-1 позволил установить, что у юношей с аллелем 5G гена PAI-1 по отношению к юношам с гомозиготной мутацией 4G/4G полиморфизма (-675) 4G/5G были выше показатели физического (p<0,001), эмоционального (p<0,001) функционирования и общего балла (p=0,006), а по отношению к юношам с генотипом (-675) 4G/5G - по 5 шкалам опросника за исключением школьного функционирования (p=0,401).

Таблица 5. Показатели качества жизни подростков при наличии полиморфизма (-675) 4G/5G гена ингибитора активатора плазминогена (PAI-1)

Показатели качества жизни	Юноши (n=186)	Девушки (n=156)	*p*
Физическое функционирование	88,5 (86,7-90,4)	79,8 (77,7-82,0)	<0,001

Эмоциональное функционирование	77,9 (76,5-80,2)	65,8 (63,4-68,1)	<0,001
Социальное функционирование	91,9 (90,4-93,4)	89,4 (87,7-91,1)	0,003
Школьное функционирование	74,6 (72,2-76,9)	70,6 (68,2-73,1)	0,008
Психосоциальное здоровье	81,5 (79,9-83,0)	75,3 (73,6-77,0)	<0,001
Общий балл	83,2 (81,8-84,7)	77,0 (75,3-78,7)	<0,001

Статистика: U-критерий Манна - Уитни; в скобках - 95 % доверительный интервал.

В то же время анализ показателей качества жизни, выполненный с учетом пола, свидетельствовал об отсутствии в этих группах юношей статистически значимых различий по всем шкалам опросника. Несколько иная ситуация зафиксирована у девушек: у носительниц генотипа (-675) 4G/4G преобладали показатели физического (p=0,020) и эмоционального (p=0,032) функционирования, психосоциального здоровья (p=0,043) и общего балла (p=0,028), при наличии генотипа (-675) 4G/5G доминировали показатели психосоциального здоровья (p=0,016) и общего балла (p=0,043). По остальным шкалам опросника статистически значимых различий по отношению к девушкам с генотипом 5G/5G полиморфизма (-675) 4G/5G гена PAI-1 не установлено.

Заключение

Таким образом, результаты исследования у подростков г. Барнаула показателей качества жизни с учетом пола и наличия полиморфизмов генов MTHFR, FII, FV и PAI-1 позволяют сделать следующее заключение. У юношей и девушек частота встречаемости отдельных генотипов статистически значимо не различается. Гендерные особенности параметров качества жизни (преобладание показателей у юношей) были установлены у носителей аллелей 677T и 677C гена MTHFR, а также при наличии генотипа 20210 (G/G) гена протромбина FII, генотипов 1691 (G/G) и 1691 (G/A) гена FV, генотипов (-675) 4G/4G, (-675) 4G/5G и (-675) 5G/5G гена PAI-1. Нивелирование гендерных особенностей было выявлено у подростков с наличием генотипа 677 (T/T) гена MTHFR и у носителей аллеля 20210A гена протромбина FII, что можно расценить как следствие негативного влияния на качество жизни.

Рецензенты:

Цывкина Л.П., д.м.н., профессор кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул.

Скударнов Е.В., д.м.н., профессор кафедры педиатрии № 1 с курсом детских инфекций ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул.

Пристатейные списки литературы
1. Альбицкий, В.Ю. Возможности использования критериев качества жизни для оценки состояния здоровья детей /В.Ю.Альбицкий, И.В.Винярская //Российский педиатрический журнал. - 2007. - № 5. - С.54-56.
2. Баранов, А.А. Изучение качества жизни в педиатрии /А.А.Баранов, В.Ю. Альбицкий, И.В.Винярская. - М.: Союз педиатров России, 2010. - 272 с.
3. Винярская, И.В. Показатели качества жизни здоровых подростков, проживающих в разных регионах России /И.В.Винярская //Общественное здоровье и здравоохранение. - 2007. - № 3. - С. 37-40.
4. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности [Текст]: монография /А.П. Момот [и др.]. - Барнаул: Изд-во Алтайского гос. ун-та, 2011. - 138 с.
5. Строзенко, Л.А. Врожденные и приобретенные факторы тромбогенного риска у девушек-подростков - жителей Алтайского края /Л.А. Строзенко, Л.Н. Клименов, Ю.Ф. Лобанов, Г.В. Сердюк, А.П. Момот, М.Л. Филиппенко // Вестник «Акушерство и гинекология». - 2011. - № 6. - С. 220-225.
6. Шахматов, И.И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза / И.И. Шахматов // Фундаментальные исследования. - 2010. - № 3. - С.144-150.
7. Varni, J.W., Burwinkle, T.M. The PedsQL as a patient-reported outcome in children and adolescents with Attention - Deficit/Hyperactivity Disorder: a population-based study/Health Qual. Life Outcomes. - 2006. - V.21, № 4. - P.26.

Генетическая предрасположенность к атеротромбозам у пациентов с тяжелой стенокардией

Г.А.Чумакова [1,2], А.П.Момот [1,4], А.А.Козаренко [1,2], Н.Г.Веселовская [2,3]
[1] Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул;
[2] Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН, Кемерово; [3] Алтайский краевой кардиологический диспансер; [4] Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН, Барнаул

Резюме. *Цель исследования:* изучение распространенности тромбогенных аллельных полиморфизмов генов у пациентов с тяжелой стенокардией, имеющих показания к реваскуляризации миокарда.
Материалы и методы. В исследование были включены 105 пациентов (87 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 33 до 70 лет со стенокардией напряжения III-IV функционального класса, имеющих показания к реваскуляризации миокарда. У всех больных изучено носительство полиморфизма ингибитора тканевого активатора плазминогена I типа (675 4G/5G) - PAI-I, мутации фактора II - протромбина (20210 G/A), мутации фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и полиморфизма метилентетрагидрофолатредуктазы (Ala 222 Val) - MTHFR, обусловливающих склонность к развитию тромбозов.
Результаты. Общая встречаемость данных мутаций и полиморфизмов в группе больных с тяжелой стенокардией, нуждающихся в реваскуляризации миокарда, в 3 раза превышает таковую в группе условно здоровых лиц, а сочетание 3 дефектов и более встречается у больных в 15 раз чаще, чем у здоровых лиц. Полученные нами данные показали, что риск развития тяжелой стенокардии прямо пропорционален, а возраст клинического дебюта ишемической болезни сердца (ИБС) обратно пропорционален количеству обнаруженных генетических отклонений. Комбинация изученных протромбогенных мутаций и полиморфизмов с другими факторами риска ИБС, такими как мужской пол, курение, приводит к более раннему клиническому дебюту ИБС.
Выводы. Необходимо формировать стратегию генетически обоснованной популяционной профилактики атеросклероза, в том числе коронарного. Условно здоровые лица с выявленными тромбогенными полиморфизмами нуждаются в наблюдении и активной первичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний.
Ключевые слова: генетический полиморфизм, тромбофилия, факторы риска атеросклероза.

Genetic predisposition to atherothromboses in patients with severe angina pectoris

G.A.Chumakova [1,2], A.P.Momot [1,4], A.A.Kozarenko [1,2], N.G.Veselovskaya [2,3]
[1] Altai State Medical University, Barnaul; [2] Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo; [3] Altai Territorial Cardiology Dispensary, Barnaul; [4] Altai Branch, Hematology Research Center, Russian Academy of Medical Sciences

Summary. *Objective.* To study the prevalence of thrombosis allelic polymorphisms in patients with severe angina who have indications for myocardial revascularization.
Design and methods. The study included 105 patients (87 men and 18 women) aged from 33 to 70 years who had angina III-IV functional class, with indications for myocardial revascularization. All the patients studied polymorphism of the inhibitor of tissue plasminogen activator I type (675 4G/5G) (PAI-I), mutations of the factor II-pro- thrombin (20210 G / A), mutations of the factor V Leiden (Arg 506 Gln) and polymorphism of the methylenetetra- hydrofolate reductase (Ala 222 Val) (MTHFR).
Results. The prevalence of these mutations and polymorphisms in patients with severe angina requiring revascularization of the myocardium in 3 times greater than in the group of healthy adolescents. Our data showed that the risk of severe angina is directly proportional, and the age of the clinical debut of CHD is inversely proportional to the number of studied genetic defects. Thrombophilic polymorphisms studied genes increases the effects of other cardiovascular risk factors such as male sex, smoking and leads to an earlier debut of clinical CHD.
Conclusion. It is necessary to form the strategy of genetically-based population policy for the prevention of atherosclerosis, including coronary. Healthy persons with diagnosed thrombosis polymorphisms are need of active primary prevention of cardiovascular disease.
Key words: genetic polymorphisms, thrombophilia, risk factors of atherosclerosis.

Сведения об авторах:
Чумакова Г.А. - д-р мед. наук, проф. каф. госпитальной и поликлинической терапии с курсами профболезней и эндокринологии Алтайского государственного медицинского университета, Барнаул; вед. науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово
Момот А.П. - д-р мед. наук, проф., дир. Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН, руководитель лаб. гематологии ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета

Козаренко А.А. - аспирант каф. госпитальной и поликлинической терапии с курсами профболезней и эндокринологии Алтайского государственного университета, Барнаул; науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово
Веселовская Н.Г. - канд. мед. наук, врач-кардиолог Алтайского краевого кардиологического диспансера, Барнаул; ст. науч. сотр. лаб. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ СО РАМН, Кемерово

Основной причиной смертности и инвалидизации от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) среди населения являются тромбозы различной локализации. Известно, что причиной развития тромбозов в зоне атеросклеротического поражения артерий является дисфункция эндотелия, изменения состава и свойств крови, гемореологических нарушений. В настоящее время доказано также существование генетической предрасположенности к развитию тромбозов, обусловленной мутациями и полиморфными вариантами генов, кодирующих синтез белков-участников гемостатических реакций. Выявлено несколько десятков генетических вариантов, ассоциированных с нарушениями в системе гемостаза и риском тромбоза. К числу наиболее важных из них, предрасполагающих к развитию венозных тромбозов, относятся полиморфизм ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-I), мутации фактора II - протромбина, фактора V Leiden, а также полиморфизм метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Их роль в развитии артериальных тромбозов изучена мало.

Установлено, что PAI-I является одним из основных регуляторов фибринолитических реакций в крови. Этот белок связывает и инактивирует тканевый активатор плазминогена, который ответственен за внешний, основной путь активации фибринолиза. Полиморфный вариант 4G приводит к повышенной экспрессии гена и, соответственно, повышенному уровню PAI-I в крови, в результате чего происходит снижение активности фибринолиза и повышается риск развития тромбообразования. В настоящее время показано, что генный полиморфизм PAI-I ассоциирован с риском развития инфаркта миокарда (ИМ) [1-3]. Высказано предположение о том, что 4G/4G- генотип PAI-I, возможно, является самостоятельным, передающимся по наследству, фактором риска развития ССЗ [4]. В других исследованиях установлено, что генотип 4G/4G является нейтральным и даже протекторным [5, 6] и не связан с развитием ССЗ, в частности коронарных стенозов [7].

Протромбин (фактор II) является важным компонентом системы свертывания крови, из которого в ходе процессов ферментативного расщепления образуется тромбин, приводящий к образованию фибринового сгустка или тромба. Существует мутация гена протромбина, которая характеризуется заменой нуклеотида гуанина нуклеотидом аденина в позиции 20210. Было высказано предположение, что носители данной мутации имеют повышенный уровень протромбина в плазме крови и более выраженную склонность к развитию тромбозов. В последствие было уточнено, что полиморфизм фактора II имеет значение при возникновении ССЗ только у пациентов с высоким кардиоваскулярным риском [8]. Кроме того, не выявлено значительного преобладания встречаемости полиморфизма фактора II у пациентов с подтвержденным атеротромбозом [9].

Мутация фактора V Leiden считается фактором риска развития как венозных, так и артериальных тромбозов. В основе данной мутации лежит замещение Arg 506 на Gln, в результате чего данная поломка придает устойчивость активной форме фактора V к протеолитическому действию протеина С, что приводит к гиперкоагуляции и высокому риску тромбозов. Показано, что распространенность мутации фактора V Leiden у пациентов с ИМ значительно выше, чем у здоровых лиц [10]. Имеются данные, что сочетание мутаций фактора V Leiden и MTHFR является синергидным и приводит к увеличению риска артериальных тромбозов [9]. Однако опубликованы результаты исследований, в которых не подтвердилась значимость генетического полиморфизма фактора V Leiden и его связи с развитием сердечно-сосудистых событий, в частности с острым ИМ [11, 12]. Таким образом, ассоциации указанных выше мутаций и полиморфизмов с развитием артериальных тромбозов, в том числе в коронарном русле, противоречивы и требуют дальнейшего уточнения.

MTHFR является одним из основных ферментов, участвующих в метаболизме метионина. Его недостаточная активность способна привести к повышению плазменного уровня промежуточного продукта обмена метионина - гомоцистеина, к гипергомоцистеинемии, что также может стать фактором риска развития атеротромбоза [9].

Полиморфизмы генов белков-участников системы свертывания крови обычно изучаются в связи с риском острых сосудистых, в том числе коронарных событий. При этом практически отсутствуют данные о связи этих полиморфных вариантов с риском развития и прогрессирования хронических форм коронарного атеросклероза.

Целью настоящего исследования явилось изучение распространенности тромбогенных аллельных полиморфизмов генов PAI-I (675 4G/ 5G), фактора II - протромбина (20210 G/A), фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и MTHFR (Ala 222 Val) у пациентов с тяжелой стенокардией, имеющих показания к реваскуляризации миокарда.

Материалы и методы

Отбор больных в исследование проводили в Алтайском краевом кардиологическом диспансере методом сплошной выборки из числа больных ишемической болезнью сердца (ИБС), поступивших в стационар для подготовки к проведению реваскуляризации миокарда различными методами (чрескожные коронарные вмешательства, аортокоронарное шунтирование).

В исследование были включены 105 пациентов (87 мужчин и 18 женщин) в возрасте от 33 до 70 лет, имеющих стенокардию напряжения III-IV функционального класса, устойчивую к медикаментозному лечению. У всех пациентов имелись гемодинамически значимые стенозы коронарных артерий (КА), выявленные при коронарографии. Обследование пациентов включало в себя сбор анамнеза, уточнение наличия основных факторов риска, в том числе наследственности по ИБС, оценку объективного статуса и носительства

Таблица 1. Тромбогенные ДНК-полиморфизмы у пациентов с тяжелой стенокардией в сравнении с контрольной группой

Встречаемость полиморфизмов и мутаций	Группа обследованных				x^2	*P*
	здоровые (*n*=572)		больные с тяжелой стенокардией			
	абс.	%	абс.	%		
PAI-I						
патологическая	1	0,2	14	13,4	65,0	<0,001
гетерозигота	53	9,3	64	60,9	162,2	<0,001
Фактор II						
патологическая	0	0	0	0	-	-
гетерозигота	1	0,2	16	15,2	76,2	<0,001
Фактор V Leiden						
патологическая	0	0	0	0	-	-
гетерозигота	9	1,6	8	7,6	10,9	0,001
MTHFR						
патологическая	4	0,7	6	5,8	12,1	0,001
гетерозигота	74	12,9	66	62,8	131,8	<0,001

Таблица 2. Протромбогенные аллельные полиморфизмы и мутации у пациентов с тяжелой стенокардией и у практически здоровых лиц

Распространенность сочетаний аллельных полиморфизмов	Группа обследованных лиц				x^2	*P*
	здоровые (*n*=572)		больные с тяжелой стенокардией (*n*=105)			
	абс.	%	абс.	%		
1 генетический дефект	141	24,8	32	30,4	1,3	0,208
2 генетических дефекта	24	4,2	45	42,8	140,7	<0,001
3 генетических дефекта и более	0	0	16	15,2	82,8	<0,001
Нормозиготы	407	71,0	12	11,6	131,7	<0,001
Общая частота аллельных полиморфизмов	165	29,0	93	88,4	131,7	<0,001

тромбогенных аллельных полиморфизмов генов PAI-I (675 4G/ 5G), фактора II - протромбина (20210 G/A), фактора V Leiden (Arg 506 Gln) и MTHFR (Ala 222 Val) методом полимеразной цепной реакции. Группу контроля составили 572 фенотипически здоровых жителей Алтайского края в возрасте 12-15 лет, у которых были изучены приведенные выше мутации и полиморфизмы [13].

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica for Windows ver. 6.0. Использовали метод однофакторного дисперсионного анализа, а также критерий x^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Различия считали достоверными при уровне значимости $p<0,05$

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов с тяжелой стенокардией поражение одной КА было выявлено у 36 (34,3%) больных, двух КА - у 47 (44,8%), трех и более - у 22 (21%) больных. Из общего числа обследованных больных генетические аномалии отсутствовали только у 12 (11,4%) пациентов.

При исследовании полиморфизма 4G/5G гена PAI-I определено, что встречаемость этого дефекта в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 74,4%, что было достоверно выше ($p<0,001$) по сравнению с группой контроля (табл. 1). Причем патологическая гомозиготная мутация у здоровых встречалась крайне редко, а при тяжелой стенокардии достигла 5,8%.

Исследования полиморфизма фактора II протромбина (20210 G/A) показали, что 15,2% пациентов имели гетерозиготный вариант носительства, что также было достоверно выше, чем в группе контроля ($p<0,001$). При исследовании мутации фактора V Leiden (Arg 506 Gln) у больных встречаемость полиморфизма также была достоверно выше, чем в группе контроля (7,6 и 1,6% соответственно, $p<0,001$). Встречаемость мутации MTHFR в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 68,7% против 13,6% в группе здоровых ($p<0,001$).

Таким образом, нами установлено, что частота мутаций генов PAI-I, протромбина, фактора V Leiden и MTHFR статистически значимо выше встречаемости этих нарушений у практически здоровых людей. Можно также видеть, что наиболее часто у больных выявлялись аллельные полиморфизмы PAI-I и MTHFR.

Кроме того, нами была изучена распространенность межгенных ассоциаций у больных с тяжелой стенокардией и здоровых лиц. Отмечено, что единичный генетический дефект имелся у 32 (30,5%) больных, 2 дефекта - у 45 (42,8%) и 3 дефекта - у 16 (15,2%) больных (табл. 2). В группе контроля 1 генетический дефект выявлен у 141 (24,8%) лица, 2 генетических дефекта - у 24 (4,2%) здоровых лиц. Три генетических дефекта в группе здоровых не отмечены. Следовательно, общая частота аллельных полиморфизмов в группе пациентов с тяжелой стенокардией составила 88,5 % против 29,0% в группе контроля ($p<0,001$).

Наши данные показывают, что клинически значимый коронарный атеросклероз с тяжелой стенокардией, требующей хирургического лечения, имели лица с сочетанием двух, трех и более изученных нами

Таблица 3. Связь возраста дебюта ИБС с носительством протромбогенных мутаций и полиморфизмов (X±т) у обследованных (n=105)

Показатель	Наличие генетических отклонений			
	нет мутации	1 мутации	2 мутации	3 мутации
Возраст дебюта ИБС, лет	53,6 ± 1,2	54,5 ± 0,9	52,8 ± 1,2	48,2 ± 1,0*
*p=0,01 между группами с отсутствием мутаций и тремя мутациями.				

Таблица 4. Связь возраста дебюта ИБС у курящих мужчин (n=53) с генетически обусловленной тромбофилией (K±m)

Показатель	Генетические отклонения			
	нет мутации	1 мутация	2 мутации	3 мутации
Возраст дебюта ИБС,	52,3 ± 1,1	51,7 ± 0,9	46,7 ± 1,4*	43,6 ± 1,2**
*p=0,002 между группами с отсутствием мутаций и двумя мутациями; **p=0,002 между группами с отсутствием мутаций и				

протромбогенных генетических мутаций и полиморфизмов. Механизмы стимуляции атерогенеза при наличии указанных нарушений неясны. Возможно, они связаны с участием данных мутаций и полиморфизмов в формировании дисфункции эндотелия и влиянии на другие этапы атерогенеза, что требует изучения.

Далее нами был проведен анализ взаимосвязи генетических протромбогенных нарушений и возраста клинического дебюта ИБС в виде стенокардии. На основании проведенного однофакторного дисперсионного анализа было установлено, что увеличение числа мутаций изученных генов системы гемокоагуляции и метаболизма метионина связано с уменьшением возраста дебюта ИБС (табл. 3).

Как видно, возраст дебюта ИБС прямо связан с количеством выявленных генетических мутаций. Полученные нами результаты свидетельствуют, что при наличии трех изученных мутаций и полиморфизмов дебют ИБС наступает в среднем на 5,2 года раньше, чем у пациентов без этих отклонений.

Принимая во внимание тот факт, что мужской пол и курение являются самостоятельными факторами риска развития ССЗ, мы рассчитали влияние генетических поломок в системе гемокоагуляции у курящих мужчин. Были получены результаты, подтверждающие влияние мутаций на возраст дебюта ИБС и в данной подгруппе больных (табл. 4).

Важно отметить, что дебют ИБС у курящих мужчин с двумя и тремя протромботическими мутациями наступал раньше в среднем на 5,6 и 8,7 года соответственно, чем у мужчин без искомых генетических аномалий.

Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что мутации и полиморфизмы PAI-I, протромбина, фактора V Leiden, MTHFR могут быть независимыми факторами риска развития коронарного атеросклероза. Общая встречаемость данных мутаций и полиморфизмов в группе больных с тяжелой стенокардией, нуждающихся в реваскуляризации миокарда, в 3 раза превышает таковую в группе условно здоровых лиц, а сочетание 3 дефектов и более встречается у больных в 15 раз чаще, чем у здоровых. Полученные нами данные показали, что риск развития тяжелой стенокардии прямо пропорционален, а возраст клинического дебюта ИБС обратно пропорционален количеству изученных генетических дефектов. Комбинация изученных протромбогенных мутаций и полиморфизмов с другими факторами риска ИБС, такими как мужской пол, курение, приводит к более раннему клиническому дебюту ИБС.

Полученные данные ставят вопрос о необходимости формирования стратегии генетически обоснованной популяционной профилактики атеросклероза, в том числе коронарного. Можно предположить, что условно здоровые лица, носители протромбогенных мутаций и полиморфизмов, нуждаются в наблюдении и активной первичной профилактике ССЗ.

Литература

1. Fu L, Jin H, Song K et al. Relationship between gene polymorphism ofthe PAI-1 promoter and myocardial infarction Chin MedJ2001; 114 (3): 266-69.

2. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. Circulation 2001; 104: 3063-8.

3. Zhan M, Zhou Y, Han Z. Plasminogen activator inhibitor-14G/5G gene polymorphism in patients with myocardial or cerebrovascular infarction in Tianjin, China. Chin MedJ2003; 116 (11): 1707-10.

4. Gardemann A, Lohre J, Katz N et al. The 4G4G genotype ofthe plasminogen activator inhibitor 4G/5Ggene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. Thromb Haemost 1999; 82 (3): 1121-6.

5. Doggen CJ, Bertina RM., Manger Cats V., et al. The 4G/5Gpoly- morphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is not associated with MI. Thromb Haemost 1999; 82:115-20.

6. Hoekstra T, Geleijnse JM, Kluft C et al. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduce risk of stroke in elderly. Stroke 2003; 34: 2822-8.

7. AndersonJL, MuhlesteinJB, HabashiJ et al. Lack of association of a common polymorphism ofthe plasminogen activator inhibitor-1 gene with coronary artery disease and myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1999; 34:1778-83.

8. Gardemann A, Arsic T, Katz N, Tillmanns H. The factor IIG20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. Tromb Haemost 1999; 81 (2): 208-13.

9. Ozmen F, Ozmen MM, Ozalp N, Akar N. The prevalence of factor V (G1691A),MTHFR (C677T) andPT (G20210A) gene mutations in arterial thrombosis. Ulus Travma Acil CerrahiDerg2009; 15 (2): 113-9.

10. Settin A DowaidarM, Abd-Al-Samad A et al. Frequency of factor V Leiden mutation in Egyptian cases with myocardial infarction Hematology 2008; 13 (3): 170-4.

11. Pastana CL, Torres A, Blanco S et al. Factor V Leiden and the risk of venous thrombosis, myocardial infarction, and stroke: a case-control in Venezuela. Genet Test Mol Biomarkers 2009; 13 (4): 537-42.

12. Ardissino D, Peyvandi F, Merlini PA et al. Factor V mutation in young survivors of Ml. Tromb Haemost 1996; 75(5): 701-2.

13-Момот АП., Цывкина ЛП, Елыкомов ВА и др. Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбофилии. Методическое пособие для врачей 2009; 23-5.

Общие закономерности гемостатических реакций на однократные стрессорные воздействия

И. И. Шахматов[1,2], В. М. Вдовин[1,2], В. И. Киселёв[1,2]

[1]- Кафедра нормальной физиологии (зав. - проф., чл.-корр. РАМН В. И. Киселёв) ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития Российской Федерации», г. Барнаул

[2] - Алтайский филиал УРАМН НИИ физиологии СО РАМН (дир. - проф., чл.-корр. РАМН В.И. Киселёв), Барнаул

Введение

В процессе жизнедеятельности организм подвергается постоянному воздействию различных по своей природе стрессирующих факторов: психоэмоциональные и физические нагрузки, иммобилизация, варианты гипоксического воздействия и т.д. [1]. При этом в развитие адаптивных реакций вовлекаются различные органы и системы, в том числе регулирующие агрегатное состояние крови и её свёртываемость [4; 6; 9; 11]. Целью настоящего исследования явилось изучение реакций со стороны системы плазменного и тромбоцитарного гемостаза при однократном воздействии различных по своей природе факторов, не выходящих за рамки эустресса.

Материал и методы исследования

Исследования выполнены на 128 крысах линии Wistar в ходе 5 серий экспериментов. Однократная физическая нагрузка моделировалась в виде навязанного бега в тредбане в течение 30 минут со скоростью 28-30 м/мин. Иммобилизация достигалась помещением крыс на 30 минут в свободно вентилируемые прозрачные камеры с фиксированным объемом (V=375 мл) и площадью (60 $см^2$). Воздействие гиперкапнической гипоксии исследовалось путем помещения крыс на 20 минут в камеры со следующей газовой средой: O_2 — 14-15%, CO_2 — 5-6%. Психоэмоциональное стрессорное воздействие моделировалось в виде одновременного помещения животных на 30 минут в общую вентилируемую камеру площадью 0,5 $см^2$ на 1 г массы тела одного животного при норме не менее 2 $см^2$. Гипоксическая гипоксия исследовалась при помещении крыс на 30 минут в барокамеру, в которой моделировался подъем на высоту
5500 м над уровнем моря (соответствует газовой среде при нормальном атмосферном давлении O_2, равном 12-14% и CO_2 — 0,01%).

Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией и директивами по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте [10]. Кровь для исследования забиралась сразу по завершении последнего воздействия у предварительно наркотизированных внутрибрюшинно тиопенталом натрия крыс (40-50 мг/кг массы) [3] из печеночного синуса. Получение образцов плазмы крови и исследование гемостаза осуществлялось в соответствии с рекомендациями З. С. Баркагана и А. П. Момота [2; 5; 8]. Умерщвление наркотизированных животных осуществлялось методом цервикальной дислокации [7]. Оценка показателей гемостаза производилась с помощью методик, позволяющих исследовать состояние тромбоцитарного звена гемостаза, внутренний и внешний путь активации коагуляционного гемостаза, конечный этап образования фибринового сгустка, состояние антикоагулянтного звена гемостаза, а также фибринолитической системы [2; 5; 8].

Контролем служили показатели гемостаза, полученные у контрольной группы крыс (n=70).

Статистическая обработка проводилась с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро-Уилки. В зависимости от распределения применяли t-критерий Стьюдента для неравных дисперсий или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде X±m, где X — среднее арифметическое в выборочной совокупности, m — стандартная ошибка средней арифметической.

Результаты и их обсуждение

В результате экспериментов установлено, что при воздействии трёх из пяти стрессорных воздействий (однократная физическая нагрузка, иммобилизация и гиперкапническая гипоксия) регистрировалась стандартная однотипная реакция со стороны плазменного гемостаза (табл. 1). Это проявлялось в активации контактной фазы свёртывания (прежде всего, по данным наиболее чувствительного силиконового времени и, в меньшей степени, — каолинового времени свёртывания и ИДКА (индекса диапазона контактной активации).

Внешний путь активации плазменного гемостаза также во всех случаях активировался (по данным протромбинового времени). Также было обнаружено угнетение конечного этапа свертывания крови при увеличении содержания фибриногена в плазме крови. Кроме того, наблюдалось некоторое увеличение антикоагулянтной и, в большей степени, фибринолитической активности плазмы крови.

Со стороны тромбоцитарного гемостаза в двух случаях из трёх выявлялась активация агрегационной функции тромбоцитов.

В оставшихся двух сериях экспериментов (однократное психоэмоциональное стрессорное воздействие и воздействие гипоксической гипоксии) также регистрировались однотипные изменения со стороны системы гемостаза (табл.). При этом агрегационная функция тромбоцитов оставалась на прежнем уровне. Исследование коагуляционного звена гемостаза выявляло активацию контактных факторов свертывания. При этом была обнаружена активация и конечного этапа свертывания крови.

Однако некоторое повышение коагуляционного потенциала плазмы крови на всех уровнях каскада не сопровождалось образованием в кровеносном русле конечного продукта свертывания — фибрина, о чём свидетельствовал низкий уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов и содержание фибриногена в плазме крови, остававшееся на прежнем уровне. Кроме того, при данных видах стрессорного воздействия внешний путь активации гемостаза оставался не вовлечённым в процесс. Со стороны противосвертывающих факторов плазмы крови также регистрировалось сохранение достаточных резервов при незначительном снижении уровня антитромбина III. Фибринолитическая система плазмы крови при данном виде реакции организма на стрессирующие воздействия не отреагировала изменением уровня своей активности. Таким образом, исследование состояния системы гемостаза при различных вариантах однократных кратковременных стрессирующих воздействий выявило ряд закономерностей.

Таблица 1.

Коагулограмма крыс в ответ на однократные кратковременные стрессирующие воздействия (X±m)

Методы исследования	Контроль (n=70)	Физическая нагрузка (n=12)	Иммобилизация (n=11)	Гиперкапническая гипоксия (n=15)	Психоэмоциональный стресс (n=10)	Гипобарическая гипоксия (n=10)
Индуцированная агрегация тромбоцитов, с	21,7±0,5*	15,5±1,1* p<0,001	12,8±0,4 p<0,001	14,3±2,9 p<0,02	22,7±0,7 p>0,05	15,3±0,6 p<0,001
Силиконовое время, с	220,4±5,7*	191,9±7,5* p<0,05	188,9±10,5 p<0,05	152,0±11,4 p<0,001	192,8±4,3 p<0,05	160,8±13,3 p<0,001
Каолиновое время, с	84,1±2,2*	82,1±3,3 p>0,05	77,5±2,9 p>0,05	67,9±3,8 p<0,002	85,9±1,3 p>0,05	67,0±4,1 p<0,01
ИДКА, %	60,7±1,2*	56,5±2,4 p>0,05	58,2±1,9 p>0,05	51,3±4,5 p<0,05	55,2+1,3 p<0,05	55,0±4,9 p>0,05
АПТВ, с	21,8±0,4	20,6±1,1* p>0,05	22,9±0,6 p>0,05	21,9±0,7 p>0,05	20,1±0,4* p>0,05	18,9±0,9 p<0,01
Протромбиновое время, с	13,9±0,2*	13,0±0,2* p<0,05	12,5±0,3 p<0,01	12,7±0,3* p<0,01	13,4±0,3* p>0,05	15,1±0,8 p>0,05
Тромбиновое время, с	28,1±0,7*	44,4±1,7 p<0,001	34,9±1,3 p<0,001	42,8±5,6* p<0,01	23,6±0,4 p<0,02	24,5±1,1 p<0,05
Эхитоксовое время, с	22,7±0,5	28,5±1,4 p<0,001	26,7±1,6 p<0,05	33,5±2,9* p<0,001	21,0±0,3 p<0,01	20,3±0,6 p<0,01
РФМК, мг %	3,3±0,1*	3,5±0,3* p>0,05	3,5±0,4* p>0,05	3,7±0,3* p>0,05	3,1±0,1* p>0,05	3,2±0,2* p>0,05
Содержание фибриногена, г/л	1,77±0,07*	2,48±0,23 p<0,01	2,55±0,20 p<0,001	2,29±0,19* p<0,02	1,94±0,11* p>0,05	2,09±0,23 p>0,05

Методы исследования	Контроль (n=70)	Физическая нагрузка (n=12)	Иммобилизация (n=11)	Гиперкапническая гипоксия (n=15)	Психоэмоциональный стресс (n=10)	Гипобарическая гипоксия (n=10)
АРП, %	103,0±1,9	117,3±3,7 p<0,01	110,5±2,6 p<0,05	128,8±3,5 p<0,001	101,5+2,4 p>0,05	94,5±2,5 p<0,01
Антитромбин III, %	97,3±1,4	88,8±1,2 p<0,001	89,6±7,9 p>0,05	80,6±1,4 p<0,001	79,6±2,6 p<0,001	71,7±9,8 p<0,02
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин.	332,1±14,0*	205,3±18,1* p<0,001	216,8±20,6 p<0,001	169,0±24,4* p<0,001	309,7±32,3 p>0,05	392,5±58,4* p>0,05

Примечание: ** - признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий показателей контрольной и опытной групп; ИДКА – индекс диапазона контактной активации; АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; АРП – антикоагулянтный резерв плазмы.*

Так, в ходе исследований обнаружено, что наиболее универсальной реакцией системы гемостаза на однократное кратковременное стрессорное воздействие является активация как тромбоцитарного, так и плазменного гемостаза. При этом со стороны последнего наблюдается сочетанное увеличение активности свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови. Такие изменения в системе гемостаза в ответ на однократное воздействие стрессора можно расценивать как одно из звеньев реакции срочной адаптации организма, повышающей предуготовленность системы к остановке кровотечения и охарактеризовать как «эустресс».

При втором варианте реагирования системы гемостаза на стрессорные воздействия, несмотря на активацию внутреннего пути свёртывания, содружественной реакции (активации) со стороны тромбоцитарного гемостаза, внешнего пути коагуляции, а также противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови не наблюдается. Обнаруженный факт может быть обусловлен недостаточной силой, либо длительностью стрессирующего воздействия [1; 4; 6; 11]), при котором запускаются лишь начальные этапы активации системы гемостаза (прежде всего её контактная фаза, наиболее чувствительная к выбросу адреналина в кровоток [2; 5; 6; 8]), не вовлекающие в процесс срочной адаптации противосвертывающую и фибринолитическую системы плазмы крови, уравновешивающие интегративное состояние системы.

Выводы

1. Система гемостаза вовлекается в формирование генерализованной адаптивной реакции организма в ответ на воздействие лишь при достижении стрессором определенного порогового уровня по его силе, либо длительности.
2. Наиболее чувствительным звеном в системе является контактная фаза активации плазменного гемостаза.
3. Противосвертывающая и фибриноли- тическая системы активируются лишь при воздействии на организм более значимого по своим параметрам стрессора, выступая в качестве нейтрализаторов, устраняющих дисбаланс в системе гемостаза при более выраженной активации плазменных и тромбоцитарных факторов свёртывания для предотвращения генерализации тромбиногенеза и его последствий.
4. Исходя из выявленных закономерностей, регистрируемых со стороны системы гемостаза в ответ на действие достаточно широкого спектра однократных кратковременных стрес- сорных воздействий, можно предположить, что изменения, зафиксированные при этом, носят не специфический, а универсальный адаптивный характер.

УДК 612. 0: 616- 005. 2: 615. 825

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ОДНОКРАТНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И ИММОБИЛИЗАЦИИ НА РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

И.И. Шахматов

ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет

Минздравсоцразвития» standart@ab.ru; iish59@vandex.ru.

Алтайский филиал ГУ НИИ физиологии СО РАМН

На 175 крысах линии Wistar установлено, что как однократная физическая нагрузка (от 30 мин. до 8 час.), так и иммобилизация (от 20 мин. до 7 дн.), обладают активирующим влиянием на гемостаз. При этом кратковременные воздействия сопровождаются содружественной активацией свертывающей и фибринолитической систем на фоне увеличения антикоагулянтных свойств плазмы крови (совокупность гемо- статических признаков, характерных для эустресса). Показано, что по мере увеличения продолжительности однократного воздействия гиперкоагуляционные изменения в системе гемостаза нарастают, антикоагулянтные резервы истощаются, а фибри- нолитическая активность в экспериментах с физической нагрузкой падает. Кроме того, в обоих случаях при максимальной продолжительности воздействия появляются признаки тромбинемии. Такая совокупность признаков характерна для развития претромботического состояния (проявление дистресса, «срыва адаптации»).

Ключевые слова: физическая нагрузка, иммобилизация, гемостаз, адаптация.

SINGLE PHYSICAL EXERCISES AND IMMOBILIZATION OF DIFFERENT DURATION IMPACT HAEMOSTATIC SYSTEM REACTIONS

I.I. Shakhmatov

Altai State Medical University standart@ab.ru.

Altai branch of the Research Institute of Physiology, Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences iish59@yandex.ru

Both single physical exercise (from 30 min to 8 hours) and immobilization (from 20 min to 20 days) activate haemostasis in 175 Wistar rats. Short exposures are accompanied with a consensual activation of coagulation and fibrinolytic systems both with augmentation of anticoagulant properties of blood plasma (the combination of haemostatic characteristic typical for eustress). We showed that hypercoagulable changes in haemostatic system increased, anticoagulant reserves and fibrinolytic activity decreased after the time augmentation of physical exercises. Moreover, the signs of thrombinemia were detected after the maximal period of exposures to the physical exercises and immobilization. Such combination of haemostatic characteristics is typical for prethrombotic state (distress, adaptation failure).

Key words: physical exercises, immobilization, haemostasis, adaptation.

Введение

Физическая нагрузка является одним из наиболее распространенных физиологических стрессоров, с которыми организм человека неизбежно встречается в повседневной жизнедеятельности. Под ее воздействием происходит естественная стимуляция функций и систем организма, обеспечивающих его устойчивость к самым различным факторам окружающей среды [1; 7]. Однако крайние проявления физической активности (от выраженных по силе и длительности физических нагрузок до полной иммобилизации) могут выступать уже в роли раздражителей, вызывающих реакцию дистресса. Между тем, как показали исследования в области гемостазиологии последних лет, различные стрессорные воздействия способны смещать гемостатический потенциал крови [3; 5; 9] вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [8; 10], При этом представление о направленности и выраженности реакций со стороны системы гемостаза при изменении параметров физического воздействия сформировано недостаточно полно.

Цель работы

Изучение состояния системы гемостаза в ответ на однократное стрессорное воздействие физической нагрузки и иммобилизации различной продолжительности.

Материал и методы исследования

Исследования были выполнены на 175 разнополых крысах линии Wistar.

Однократная физическая нагрузка различной продолжительности моделировалось в виде навязанной ходьбы в тредбане со скоростью 6-8 м/мин в течение 30 минут, 2, 4 и 8 часов соответственно (первые 4 экспериментальные группы).

Воздействие однократной иммобилизации различной продолжительности (20 минут, 3, 24 часа и 7 суток) у следующих 4 экспериментальных групп животных моделировалось путем их помещения в специально изготовленные индивидуальные пеналы из органического стекла, ограничивающие подвижность животных, снабженные поилками и кормушками.

Сразу по окончании воздействия, после предварительной наркотизации животных Тиопенталом натрия из расчета 0,2 мл/100 г массы путем его внутрибрюшинного введения кровь для исследования забиралась из печеночного синуса. Контролем служили показатели гемостаза, полученные у контрольной группы крыс (n=70). Оценка показателей гемостаза производилась с помощью методик, позволяющих исследовать состояние тромбоцитарного гемостаза, внутренний и внешний путь активации коагуляционного гемостаза, конечный этап образования фибринового сгустка, состояние антикоагулянтного звена, а также фибринолитической системы [2; 4]. Все параметры системы гемостаза оценивались с помощью диагностических наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Использование крыс в экспериментахосуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами-86/609/EEC [6]. Статистическая обработка проводилась с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро-Уилка. В зависимости от распределения применяли t-критерий Стьюдента для неравных дисперсий или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде X±m, где X – среднее арифметическое в выборочной совокупности, m – стандартная ошибка средней арифметической.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ результатов, зарегистрированных в ходе экспериментов с **физической нагрузкой** различной продолжительности, выявил существенные отличия в реакциях системы гемостаза в ответ на увеличивающееся по времени действие раздражителя (табл. 1). Так, по мере увеличения продолжительности воздействия агрегационная активность тромбоцитов последовательно повышалась, начиная от нормального уровня на тридцатой минуте и достигая максимума к окончанию восьмичасового воздействия.

Со стороны показателей, характеризующих состояние контактной фазы гемокоагуляции (силиконовое и каолиновое время свертывания, индекс диапазона контактной активации (ИДКА)) было обнаружено их последовательное укорочение, что говорило о нарастании гиперкоагуляционных сдвигов на начальных этапах свертывания крови.

Показатели, характеризующие общий (активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)) и внешний (протромбиновое время) пути активации свертывания, также последовательно смещались в сторону гиперкоагуляции.

Тесты, оценивающие состояние конечного этапа свертывания (тромбиновое и, в особенности, эхитоксовое время, не реа

Динамика изменений со стороны системы гемостаза, зарегистрированных в ходе возрастающего по продолжительности однократного иммобилизованного воздействия (X±m)

Методы исследования	Контроль (n=70)	Опыт 1 (30 мин) (n=10)	Опыт 2 (2 часа) (n=10)	Опыт 3 (4 часа) (n=18)	Опыт 4 (8 часов) (n=10)	P_{01-04}
Тромбоциты, 10^9/л	772,1±23,9	470,0±62,5	701,7±22,0	707,6±32,0	850,0±27,4	<0,001
	P_{k-o}	<0,001	<0,05	>0,05	<0,01	
Индуцированная агрегация тромбоцитов, с	21,7±0,5*	22,2±1,8	10,5+0,8	13,9±0,9	9,0±0,6	<0,001
	P_{k-o}	>0.05	<0,001	<0,001	<0,001	
Силиконовое время, с	220,4±5,7*	249,0± 18,4*	237,0±12,9	202,1±15,5*	162,1±16,0	<0,001
	P_{k-o}	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	
Каолиновое время, с	84,1±2,2*	110,5±4,4	82,4+4,9*	94,9±5,4	74,0±4,8	<0,001
	P_{k-o}	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	
ИДКА, %	60,7±1,2*	54,1±3,0	65,1±1,5	57,1 ±3,9	52,8±3,0	>0,05
	P_{k-o}	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01	
АПТВ, с	21,8±0,4	24,2±0,8	16,7±0,3*	18,9±0,6*	20,0±0,4	<0,001
	P_{k-o}	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01	
Протромбиновое время, с	13,9±0,2*	14,4±0,3	13,2+0,3*	12,7±0,5	12,4±0,4	<0,001
	P_{k-o}	>0 05	>0,05	<0,05	<0,01	
Тромбиновое время, с	28,1 ±0,7*	23,8±0,3*	30,3±1,4	37,3±1,8*	19,0±0,5*	<0,001
	P_{k-o}	>0 05	>0,05	<0,001	<0,001	
Эхитоксовое время, с	22,7±0,5	16,2±0,7*	15,9±0,4	23,8±0,7	16,3±0,6*	>0,05
	P_{k-o}	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	
РФМК, мг %	3,3±0,1*	3,2±0,2*	3,2±0,2*	5,8±1,5*	7,8±1,8*	<0,02
	P_{k-o}	>0,05	>0,05	<0,05	<0,001	
Содержание фибриногена, г/л	1,77±0,07*	1,88±0,12*	1,90±0,10	1,69±0,08	0,65±0,13*	<0,001
	P_{k-o}	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	
АРП, %	103,0*1,9	126,4±5,0	113,0±4,1*	104,0±5,3	73,5±1,9	<0,001
	P_{k-o}	<0001	<0,05	>0,05	<0,001	
Антитромбин III, %	97,3±1,4	107,7±1,3	82,9±5,1	79,5±3,3	64,6±3,3	<0,001
	P_{k-o}	<0,001	< 0,01	<0,001	<0,001	
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин.	332,1±14,0*	251,5±23,4	458,0±21,3	479,0±36,5	775,0±71,6	<0,001
	P_{k-o}	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	

гирующее на уровень гепарина в плазме крови и оценивающее способность к самосборке всех фракций фибрина) содружественно регистрировали нарастание гиперкоагуляционных сдвигов при максимальной продолжительности воздействия. Растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), появление которых в кровотоке подтверждает наличие тромбинемии, начиная с четырехчасового воздействия достоверно превышали исходный уровень, достигая максимума при восьмичасовой однократной нагрузке. При этом со стороны фибриногена отмечалась обратная динамика, т.к. его содержание достоверно снижалось к восьмому часу воздействия. Содружественное изменение обоих показателей, максимально выраженное к восьмому часу эксперимента, подтверждает факт внутрисосудистого тромбиногенеза, ведущего к образованию РФМК в плазме крови и, как следствие, активному потреблению фибриногена.

Со стороны противосвертывающей системы крови увеличение антикоагулянтной активности, регистрируемое при менее длительном воздействии, сменялось достоверным ее снижением к истечению восьмого часа.

Оценка в динамике скорости лизиса эуглобулинового сгустка также выявляла первичную активацию в ответ на кратковременную нагрузку, которая впоследствии сменялась всенарастающим угнетением фибринолитической активности.

Изучение реакции системы гемостаза в ответ на увеличивающееся по продолжительности **иммобилизационное воздействие** выявляло на протяжении семидневных наблюдений существенную динамику в изменении целого ряда показателей (табл. 2).

Так, агрегационная активность тромбоцитов, повышенная на начальных этапах иммобилизации (отражение психоэмоционального стрессорного воздействия), при более длительном воздействии сменялась стойким угнетением процесса.

Таблица 2

Динамика изменений со стороны системы гемостаза, зарегистрированных в ходе возрастающего по продолжительности однократного иммобилизационного воздействия (X±m)

Методы исследования	Контроль (n=70)	Опыт 1 (20 мин) (n=11)	Опыт 2 (3 часа) (n=13)	Опыт 3 (24 часа) (n=12)	Опыт 4 (7 дней) (n=21†)	P_{01-04}
Индуцированная агрегация тромбоцитов, с	21,7+0,5*	12,8±0,4	21,5±1,4	34,0±4,0	32,4±3,4*	<0,001
		<0,001	>0,05	<0,002	<0,01	
Силиконовое время, с	220,4±5,7*	188,9+10,5	174,8±11,4	161,8±16,5*	134,5±15,4	<0,01
		<0,05	<0,002	<0,001	<0,001	
Каолиновое время, с	84,1+2,2*	77,5±2,9	81,9±2,0	85,0±2,6	62,8±4,5	<0,01
		>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	
ИДКА, %	60,7±1,2*	58,2±1,9	51,3+2,6	43,9±3,4	44,5±4,3	<0,01
		>0,05	<0,01	<0,001	<0,001	
АПТВ, с	21,8±0,4	22,9±0,6	20,5+0,7	16,1±0,3	22,2±0,9	>0,05
		>0,05	>0,05	<0,001	>0,05	
Протромбиновое время, с	13,9±0,2*	12,5+0,3	13,9±0,2*	13,8±0,4	14,1±0,5*	<0,01
		<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	
Тромбиновое время, с	28,1±0,7*	34,9±1,3	26,7±1,3*	32,7±1,6	23,1±0,7	<0,001
		<0,001	>0,05	<0,02	<0,001	
Эхитоксовое время, с	22,7±0,5	26,7±1,6	24,8±1,3	25,1±1,1	29,0±1,4	>0,05
		<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	
РФМК, мг%	3,3±0,1*	3,5±0,4*	3,3+0,3*	3,1±0,1*	11,4+2,3*	<0,01
		>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	
Содержание фибриногена, г/л	1,77±0,07*	2,55+0,20	1,97±0,16	2,50±0,28*	1,43±0,10	<0,001
		<0,001	>0,05	<0,01	<0,05	
АРП, %	103,0±1,9	110,5±2,6	103,2±0,9	113,3±6,5*	82,4±2,6	<0,001
		<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	
Антитромбин III, %	97,3±1,4	89,6±7,9	77,3+2,6	86,5±5,2	74,0±1,0*	>0,05
		>0,05	<0,001	<0,05	<0,001	
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин.	332,1±14,0*	216,8±20,6	255,1 ±32,2	242,5±24,4	236,4±15,7*	>0,05
		<0,001	<0,05	<0,02	<0,001	

*Примечание: * — признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению; † — из 21 крысы подвергавшейся однократной 7-дневной иммобилизации, 4 особи входе данного эксперимента погибли; P_{K-O} —уровень статистической значимости различий признаков контрольной и опытных групп; P_{01-04} — уровень статистической значимости различий признаков первой и четвертой опытных групп; n — количество особей в группе*

Со стороны плазменного гемостаза по мере увеличения продолжительности иммобилизации отмечалась последовательная активация всех показателей, характеризующих состояние контактных факторов свертывания крови (силиконовое время – с 20-минутной отметки; ИДК – начиная с 3 часов; каолиновое время – при семидневной иммобилизации.)

Показатель, характеризующий состояние внутреннего пути свертывания (АПТВ), выявлял активацию процесса по истечении 24 часов иммобилизации. Внешний же путь гемокоагуляции активировался лишь при двадцатиминутном воздействии.

Со стороны конечного этапа свертывания наиболее выраженные изменения были зарегистрированы при максимально длительном (семидневном) ограничении двигательной активности животных, когда на фоне удлинения эхитоксового времени резко сокращалось

тромбиновое время свертывания, что могло быть обусловлено как существенной активацией всего коагуляционного каскада, так и истощением противосвертывающих факторов.

Исследование уровня фибриногена и РФМК подтвердило изложенное выше предположение о наиболее выраженной активации свертывания на последнем (семидневном) этапе наблюдений. Так, уровень фибриногена к окончанию недельного срока воздействия опускался ниже исходного уровня. Выявленный факт потребления фибриногена дополнялся к 7 дню ограничением подвижности и ростом РФМК, что подтверждало высокую степень активации свертывания крови наконечных его этапах.

Анализ динамики показателей, характеризующих состояние противосвертывающей системы крови, показал, что содружественное снижение уровня основного антикоагулянта крови и ее гепарин-кофакторной активности регистрировалось лишь при семидневном воздействии, что говорило о достаточно серьезном напряжении противосвертывающих механизмов, вызванных гиперкоагуляционными сдвигами, описанными ранее.

Фибринолитическая активность плазмы крови на всем протяжении иммобилизационного воздействия оставалась стабильно повышенной.

Заключение

Таким образом, анализ результатов экспериментов по оценке влияния увеличивающихся по продолжительности как однократных физических нагрузок, так и иммобилизации на систему гемостаза показал, что по мере увеличения длительности воздействия содружественная реакция свертывающей и фибринолитической систем на раздражитель постепенно утрачивается. В целом благоприятная картина срочной адаптации в рамках эустресса, выявленная со стороны гемостаза при кратковременном воздействии (незначительная активация гемокоагуляции на фоне роста антикоагулянтной и фибринолитической активности), по мере увеличения продолжительности однократного воздействия становится все более угрожающей. Развивающаяся последовательно картина дистресса приводит к усилению степени активации свертывания крови, в процесс последовательно вовлекаются как начальный, так и конечный этапы гемокоагуляции, к активации свертывания по внутреннему пути присоединяется и внешний механизм. Снижение антикоагу лянтной (а при физических нагрузках и фибринолитической) активности еще больше усугубляет картину, что в конечном счете приводит к появлению в кровотоке РФМК и активному потреблению фибриногена. Все эти данные в совокупности позволяют предположить факт тромбинемии и угрозу развития ДВС-синдрома у экспериментальных животных. Подтверждением этого явилась гибель в ходе обоих максимально продолжительных воздействий 20% животных с обнаруженными патоморфологическими признаками прижизненного внутрисосудистого свертывания крови. Все это может служить специфическим проявлением поломки адаптивных механизмов в системе гемостаза.

Список литературы

1. Агаджанян Н.А. Учение о здоровье и проблемы адаптации / Н.А. Агаджанян, Р.М. Баевский, А.П. Береснева. — Ставрополь: Изд-во СГУ, 2000. — 203 с.

2. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. — М.: Ньюдиамед—АО, 2008. — 296 с.

3. Виценя М.В. Влияние физической нагрузки на маркеры активации системы гемостаза у больных, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте / М.В. Виценя, Е.А. Ноева, Е.В. Титаева, А.Б. Добровольский// Терапевтический архив. — 2004. — № 12. —С. 17,

4. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин. — М.; Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. — 227 с.

5. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования.— Казань: Фэн, 2000. — 364 с.

6. Копаладзе Р.А. Методы эвтаназии экспериментальных животных — этика, эстетика, безопасность персонала // Успехи физиологических наук. — 2000. — Т. 31, №3. — С. 79-90.

7. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2001. — № 3. — С. 28-40.

8. Шахматов И.И. Реакции системы гемостаза у крыс на однократную физическую нагрузку в зависимости от уровня исходной тренированности / И.И. Шахматов, О.В. Алексеева // Рос. мед.-биол. вестн. им. И.П. Павлова. — 2007. — № 4. — С. 18-24.

9. Bums P. Exercise in claudicants is accompanied by excessive thrombin generation / P. Burns, T. Wilmink, C. Fegan et al. // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. — 2003. —V. 26, № 2. —P. 150-155.

10. Gardner A.W. Association between physical activity and endogenous fibrinolysis in peripheral arterial disease: a cross-sectional study / A.W. Gardner, L.A. Killewich // Angiology. — 2002. — V. 53, N 4. — P. 367-374.

УДК 612. 1: 616-005. 2: 615. 322

ВЛИЯНИЕ МНОГОКРАТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА

Шахматов И.И., Алексеева О.В.

ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития», Барнаул, e-mail: iish59@yandex.ru;

Алтайский филиал УРАМН НИИ физиологии СО РАМН, Барнаул

В исследованиях на 132 крысах линии Wistar показано, что многократные физические нагрузки снижают риск развития внутрисосудистого свёртывания, выявленного при однократных физических воздействиях. Двухчасовой режим многократных физических нагрузок уже на седьмой день воздействий сопровождается снижением активности тромбоцитарного и плазменного гемостаза, нормализацией антикоагулянтной и фибринолитической систем крови. Восьмичасовой режим физических воздействий сопровождается более выраженной гипоагрегацией и гипокоагуляцией, активацией антикоагулянтной и фибринолитической систем крови, зарегистрированных только к тридцатому дню тренировок.

Ключевые слова; физическая нагрузка, гемостаз, адаптация

THE EFFECT OF MULTIPLE EXPOSURE OF PHYSICAL EXERCISE ON HEMOSTASIS SYSTEM

Shakhmatov I.I., Alekseeva O.V.

Altai State Medical University, Barnaul, e-mail: iish59@yandex.ru;

Altai branch of the Research Institute of Physiology, Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Barnaul

The multiple physical activity decrease the risk of intravascular coagulation, identified at single physical exercises in studies in 132 Wistar line rats, has been showed. Two-hour treatment of multiple physical activities is accompanied by decreased activity of platelet and plasma hemostasis, anticoagulant and fibrinolytic blood systems on the seventh day of impacts. Eight-hour mode of physical exercises is accompanied by more pronounced.

Keywords: physical exercises, haemostasis, adaptation

Однократная физическая нагрузка по мере увеличения длительности её воздействия существенно изменяет характер реагирования на неё системы гемостаза [6, 10]. Известно, что увеличение параметров однократного стрессорного воздействия, как правило, сопровождается появлением, либо нарастанием неблагоприятных сдвигов в системе гемостаза - вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания [6, 9], и может стать причиной серьёзных осложнений в состоянии организма в целом [8].

В то же время многочисленными исследованиями [7] показан тренирующий эффект повторного воздействия стрессоров, что может проявляться в адаптивном и, как правило, более благоприятном изменении показателей функционирования организма по сравнению с зафиксированными при однократном воздействии. Регулярные дозированные физические нагрузки широко используются для профилактики и реабилитации при патологии сердечно-сосудистой системы за счёт повышения адаптированности и жизнестойкости организма [5].

Цель работы: исследовать влияние на систему гемостаза многократного воздействия физической нагрузки различной продолжительности.

Материал и методы исследования

Исследования выполнены на 132 разнополых крысах линии Wistar.

Многократно повторяющиеся физические нагрузки различной продолжительности моделировались в ходе шести серий экспериментов. В качестве ежедневной физической нагрузки использовалась навязанная ходьба в тредбане в двух режимах: по 2 и 8 часов в сутки со скоростью 6-8 м/мин в течение 1, 7 и 30 дней соответственно.

В первой *(n* = 10) и четвертой *(n* = 12) сериях экспериментов оценивалось состояние системы гемостаза у крыс сразу по завершении однократной двух- и восьмичасовой физической нагрузки. Полученные при этом данные использовались нами в дальнейшем в качестве одной из групп сравнения при анализе изменений. зафиксированных при аналогичных по продолжительности многократных воздействиях (2 и 3; 5 и 6 серии соответственно).

Во второй (*n* = 10) и третьей (*n* =10) сериях животные на протяжении 7 и 30 дней подвергались многократной ежедневной двухчасовой физической нагрузке.

В пятой *(n*=10) и шестой *(n*=10) сериях экспериментов животные на протяжении 7 и 30 дней подвергались многократной ежедневной восьмичасовой физической нагрузке.

По окончании последнего воздействия, после предварительной наркотизации животных Тиопенталом натрия из расчета 0,2 мл/100 г массы путём его внутрибрюшинного введения, кровь для исследования забиралась из печеночного синуса. Контролем служили показатели, полученные у интактной группы

крыс *(n* = 70), находившихся на свободном рационе в просторных клетках.

Параметры гемостаза определяли с помощью диагностических наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия), согласно рекомендациям З.С. Баркагана и А.П. Момота [1]. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами - 86/609/ЕЕС [3].

Статистическая обработка проводилась с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро-Уилки. В зависимости от распределения применяли t-критерий Стьюдента для неравных дисперсий или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде $X \pm m$, где X - среднее арифметическое в выборочной совокупности, m - стандартная ошибка средней арифметической.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ коагулограммы экспериментальных животных после однократной **двухчасовой физической нагрузки** показал, что данное воздействие сопровождалось появлением признаков активации тромбоцитар- ного и коагуляционного гемостаза (табл. 1). Эти изменения сопровождались незначительным ростом афинности антитромбина III к гепарину (АРП) при его сниженном (в
1,2 раза) содержании, на фоне значимого угнетения фибринолитической активности плазмы крови (в 1,4 раза).

Исследование системы гемостаза в процессе двухчасовых физических нагрузок показало, что уже на седьмой день эксперимента наблюдалось двукратное снижение агрегационной активности тромбоцитов, а также замедление коагуляционного гемостаза на всех его этапах (удлинение АПТВ в 1,2 раза, протромбинового времени в 1,6 раза). При этом отмечалось лишь незначительное снижение (в 1,2 раза) уровня основного антикоагулянта - антитромбина III, который, возможно, потреблялся в процессе ежедневного физического воздействия [2].

После тридцатидневных двухчасовых физических нагрузок, наблюдалось снижение агрегационной активности тромбоцитов, а также гипокоагуляция контактной фазы и конечного этапа плазменного гемостаза при незначительном уменьшении уровня антитромбина III. Фибринолитическая активность плазы крови возвращалась к исходному уровню, существенно превышая таковую при однократном воздействии (в 1,4 раза).

Следующим этапом работы стало изучение системы гемостаза в процессе **ежедневных восьмичасовых (интенсивных) физических нагрузок** в течение 1,7 и 30 дней.

Увеличение продолжительности однократной физической нагрузки до 8 часов у не-адаптированных животных характеризовалось появлением гемостазиологических признаков (табл. 2) высокого риска развития внутрисосудистого тромбообразования (выраженная гипераггрегация тромбоцитов и гиперкоагуляция практически по всем по-казателям), Повышение уровня РФМК (в 2,4 раза) сочеталось со снижением количества фибриногена, что является показателем его активного потребления в процессе генерации молекул тромбина и наличии тромбинемии [1, 2]. В то же время происходило снижение уровня гепарин-кофакторной активности плазмы (АРП снижался в 1,4 раза) и резкое падение (в 1,5 раза) уровня антитромбина III в кровотоке. Зна-чительно (в 2,3 раза) угнетался спонтанный эуглобулиновый фибринолиз.

Как видно из табл. 2, при данном режиме тренировок на седьмой день эксперимента обнаружено повышение свертываемости крови (укорочение АПТВ, эхитоксового времени в 1,2 раза) с признаками умеренной тромбинемии (повышение в 1,3 раза уровня РФМК при снижении фибриногена) на фоне сниженной фибринолитической активности плазмы крови. При этом показатели, характеризующие тромбоцитарное звено гемостаза, возвращались к уровню контрольных величин, достоверно снижаясь по сравнению с однократной нагрузкой (в 2,8 раза).

После ежедневных восьмичасовых фи-зических нагрузок на протяжении 30 дней (см. табл. 2) состояние системы гемостаза характеризовалось наличием гипоагрегации и гипокоагуляции, что могло опосредоваться через увеличение аффинности анти- тромбина к гепарину (увеличение АРП в 1,6 раза), при одновременном снижении (в
1,3 раза) уровня антитромбина III. Несмотря на общую гипокоагуляционную направ-ленность, регистрировалось укорочение (в 1,3 раза) силиконового времени, свиде-тельствующее об активации контактных факторов свертывания. Признаков скрытой тромбинемии уже не наблюдалось, о чем говорил нормальный уровень РФМК. Также регистрировалось увеличение содержания в плазме крови основного субстрата коагуляции - фибриногена (в 1,5 раза по сравнению с контролем и в 4,2 раза по сравнению однократной нагрузкой), что можно расценивать, как проявление формирования «структурного следа» адаптации. Известно, что уровень фибриногена в большой степени зависит от концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов, поскольку РФМК являются продуктом его фермен-

Таблица 1

Динамика изменений системы гемостаза при двухчасовых физических нагрузках *(X ± m)*

Методы исследования	Контроль	Опыт-1	Опыт-2	Опыт-3
Индуцированная агрегация тромбоцитов, с	21,7 ±0,5*	10,5 ± 0,8	49,5 ± 3,8	30,1 ± 1,8
		$p_{к-1}$ < 0,001	$p_{к-2}$ <0,001 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ < 0,001 p_{1-3} < 0,001
Силиконовое время, с	220,4 ± 5,7*	237,0 ± 12,9	305,8 ± 18,0	197,4 ± 14,0*
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ <0,001 p_{1-2} < 0,01	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} > 0,05
Каолиновое время, с	84,1 ±2,2*	82,4 ± 4,9*	115,8 ± 3,5	96,2 ± 2,2
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ <0,001 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ < 0,01 p_{1-3} < 0,01
Индекс диапазона контактной активации (ИДКА), %	60,7 ±1,2*	65,1 ± 1,5	61,4 ± 1,5	48,5 ± 3,8
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ > 0,05 p_{1-2} > 0,05	$p_{к-3}$ < 0,005 p_{1-3} < 0,001
Активированное парциальное тромбопластиновое время свёртывания (АПТВ), с	21,8 ±0,4	16,7 ± 0,3*	20,4 ± 0,4	21,0 ± 0,4
		$p_{к-1}$ < 0,001	$p_{к-2}$ <0,02 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} < 0,001
Протромбиновое время, с	13,9 ±0,2*	13,2 ± 0,3*	22,8 ± 0,8	21,9 ± 1,4
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ < 0,001 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ < 0,001 p_{1-3} < 0,001
Тромбиновое время, с	28,1 ±0,7*	30,3 ± 1,4	44,3 ± 1,5*	24,9 ± 0,6
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ < 0,001 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} < 0,001
Эхитоксовое время, с	22,7 ± 0,5	15,9 ± 0,4	28,5 ± 0,8	29,5 ± 1,6
		$p_{к-1}$ < 0,001	$p_{к-2}$ < 0,001 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ < 0,001 p_{1-3} < 0,001
Растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), мг%	3,3 ±0,1*	3,2 ± 0,2*	3,4 ± 0,1*	3,8 ± 0,6*
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ > 0,05 p_{1-2} > 0,05	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} > 0,05
Содержание фибриногена, г/л	1,77 ±0,07*	1,90 ± 0,10	1,04 ± 0,19	1,43 ± 0,09
		$p_{к-1} > 0,05$	$p_{к-2}$ < 0,002 p_{1-2} < 0,001	$p_{к-3}$ < 0,05 p_{1-3} < 0,01
Антитромбиновьтй резерв плазмы (АРП), %	103,0 ± 1,9	113,0 ± 4,1*	97,9 ± 2,1	102,3 ± 2,0
		$p_{к-1}$ < 0,05	$p_{к-2}$ > 0,05 p_{1-2} < 0,01	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} > 0,05
Антитромбин III, %	97,3 ± 1,4	82,9 ± 5,1	86,9 ± 3,3*	84,1 ± 5,2
		$p_{к-1}$ < 0,05	$p_{к-2}$ < 0,02 p_{1-2} > 0,05	$p_{к-3}$ < 0,01 p_{1-3} > 0,05
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин.	332,1 ±14,0*	458,0 ± 21,3	370,5 ± 38,5	340,0 ±24,7
		$p_{к-1}$ <0,001	$p_{к-2}$ > 0,05 p_{1-2} > 0,05	$p_{к-3}$ > 0,05 p_{1-3} < 0,001

Примечание: * - обозначены признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению; $p_{к-1}$ - сравнение контроля и первой опытной группы, $p_{к-2}$ - сравнение контроля и второй опытной группы, $p_{к-3}$ - сравнение контроля и третьей опытной группы, p_{1-2} - сравнение первой и второй опытных групп, p_{1-3} - сравнение первой и третьей опытных групп.

Таблица 2

Динамика изменений системы гемостаза при восьмичасовых физических нагрузках *(X± m)*

Методы исследования	Контроль	Опыт-4	Опыт-5	Опыт-6
Индуцированная агрегация тромбоцитов, с	21,7 ± 0,5*	9,0 ± 0,6	25,4 ± 4,1	43,7 ± 3,8
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
Силиконовое время, с	220,4 ± 5,7*	176,5 ± 18,5	204,7 ± 19,6	159,7 ± 10,7
		$p_{к-4} < 0,05$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} > 0,05$
Каолиновое время, с	84,1 ± 2,2*	74,0 ± 4,8	80,9 ± 5,6	77,4 ± 4,9
		$p_{к-4} > 0,05$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} > 0,05$ $p_{4-6} > 0,05$
ИДКА, %	60,7 ± 1,2*	56,4 ± 2,6	58,0 ±3,9	51,1 ± 2,1
		$p_{к-4} > 0,05$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} > 0,05$
АПТВ, с	21,8 ± 0,4	20,0 ± 0,4	18,9 ±0,4*	21,4 ± 0,5
		$p_{к-4} < 0,01$	$p_{к-5} < 0,002$ $p_{4-5} < 0,05$	$p_{к-6} > 0,05$ $p_{4-6} < 0,05$
Протромбиновое время, с	13,9 ± 0,2*	12,4 ± 0,4	15,3 ± 1,2	29,2 ± 2,4
		$p_{к-4} < 0,01$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,05$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
Тромбиновое время, с	28,1 ± 0,7*	19,0 ± 0,5*	21,9 ± 1,1	63,7 ± 6,3
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} < 0,02$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
Эхитоксовое время, с	22,7 ± 0,5	16,3 ±0,6*	19,7 ± 1,4	35,0 ± 1,6
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} < 0,05$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
РФМК, мг%	3,3 ± 0,1*	7,8 ± 1,8*	4,2 ± 0,4*	3,2 ± 0,2*
		$p_{к-4} < 0,01$	$p_{к-5} < 0,001$ $p_{4-5} > 0,05$	$p_{к-6} > 0,05$ $p_{4-6} < 0,02$
Содержание фибриногена, г/л	1,77 ± 0,07*	0,65 ±0,13*	1,38 ±0,09	2,72 ± 0,21
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} < 0,01$ $p_{4-5} < 0,002$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
АРП, %	103,0 ± 1,9	73,5 ± 1,9	107,9 ± 3,4	159,9 ± 7,3
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,001$
Антитромбин III, %	97,3 ± 1,4	64,6 ± 3,3	99,6 ± 4,1	78,0 ± 2,3
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$	$p_{к-6} < 0,001$ $p_{4-6} < 0,01$
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин.	332,1 ± 14,0*	775,0 ± 71,6	477,5 ± 45,8	230,5 ± 38,7*
		$p_{к-4} < 0,001$	$p_{к-5} < 0,002$ $p_{4-5} < 0,01$	$p_{к-6} < 0,01$ $p_{4-6} < 0,001$

П р и м е ч а н и е : * - обозначены признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению;
$p_{к-4}$ - сравнение контроля и четвёртой опытной группы, $p_{к-5}$ - сравнение контроля и пятой опытной группы, $p_{к-6}$ - сравнение контроля и шестой опытной группы, p_{4-5} - сравнение четвёртой и пятой опытных групп, p_{4-6} - сравнение четвёртой и шестой опытных групп.

тативного разрушения тромбином [4]. При этом фибринолитическая активность повышалась в 1,4 раза по сравнению с интактны- ми животными и превышала аналогичный показатель, зарегистрированный после однократной нагрузки, более чем в три раза.

Заключение

Таким образом, анализируя материал, полученный в ходе ежедневных физических тренировок, можно сделать вывод, что многократное воздействие одинакового по силе раздражителя устраняет рассогласование в отдельных звеньях системы гемостаза вплоть до снижения риска развития внутрисосудистого свёртывания крови, выявленное при однократной восьмичасовой нагрузке.

Двухчасовой режим многократных физических нагрузок уже на седьмой день воздействий сопровождается снижением активности тромбоцитарного и плазменного гемостаза, нормализацией антикоагулянт- ной и фибринолитической систем крови. Восьмичасовой режим физических воздействий сопровождается более выраженной гипоагрегацией и гипокоагуляцией, а также активацией антикоагулянтной и фибринолитической систем, зарегистрированных лишь к тридцатому дню тренировок. Запаздывание стабилизации реакций системы гемостаза на новом адаптационном уровне можно рассматривать как необходимость более длительного адаптационного периода при действии на организм более интенсивного (в данном случае - по длительности воздействия) раздражителя.

Список литературы

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: Ньюдиамед-АО, 2008.-292 с.

2. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин. - М., Тверь: ООО Изд- во «Триада»,. 2005. - 227 с.

3. Копаладзе Р.А. Методы эвтаназии экспериментальных животных - этика, эстетика, безопасность персонала // Успехи физиологических наук. - 2000. Т. 31, № 3. - С. 79-90.

4. Момот А.П. Патология гемостаза. - СПб.: ФормаТ, 2006.-221 с.

5. Влияние длительных физических тренировок на параметры системы гемостаза у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа / Л.А. Ратникова, В.А. Метельская, Е.Ю. Зволинская, А.М. Олферьев. Д.М. Аронов, Р.Г. Оганов // Кардиология. - 2006. № 12.- С. 78-81.

6. Шахматов И.И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза // Фундаментал. исслед. - 2010. -№ 3. - С. 144-150.

7. Physical activity for coronary heart disease: cardioprotective mechanisms and effects on prognosis / D. Scrutinio, F. Bellotto, R. Lagioia, A. Passantino // Mormldi. Arch. Chest. Dis. - 2005. - Vol. 64, № 2. - P. 77-87.

8. Varro A, Baczko I. Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac eiectrophysiological point of view. Pflugers Arch. - 2010. - № 460. - P. 31-40.

9. Effect of air travel on exercise-induced coagulatory and fibrinolytic activation in marathon runners / B. Parker, A. Augeri, J. Capizzi, C. Trovanos, P. Kriz, P. DTIemecourt, P. Thompson // Clin J Sport Med - 2011. - Vol. 21, № 2. - P. 126-130.

10. Menzel K, Hilberg T. Blood coagulation and fibrinolysis in healthy, untrained subjects: effects of different exercise intensities controlled by individual anaerobic threshold // Eur J Appl Physiol. -2011.- Vol. 111, № 2. - P. 253-260.

Рецензенты:

Момот А.П., д.м.н., профессор, директор Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр Министерства здравоохранения и социального развития РФ», г. Барнаул;

Мамаев А.Н., д.м.н., с.н.с Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр Министерства здравоохранения и социального развития РФ», г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 24.06.2011.

Нарушения в системе протеина С у больных с антифосфолипидным синдромом

А.Н. Мамаев, А. П. Момот

Алтайский филиал ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

Антифосфолипидный синдром (АФС) является наиболее частой разновидностью тромбофилий вследствие иммунных нарушений. При АФС обнаруживают в высоком титре антитела к содержащимся в плазме отрицательно заряженным мембранным фосфолипидам и/или волчаночный антикоагулянт.

В результате исследований последних лет установлено, что протеин С является одним из основных физиологических антикоагулянтов, при активации которого происходит протеолитическая деградация основных акцелераторов коагуляционных реакций — факторов V и VIII. Установлено также, что эти биохимические реакции проходят на фосфолипопротеидных мембранах, а функциональная активность последних снижена при антифосфолипидном синдроме (АФС). Именно поэтому считается, что в этиологии тромботических нарушений при АФС большое значение имеет функциональная неполноценность антикоагулянтной системы протеина С.

Для оценки функциональной способности антикоагулянтной системы протеина С использовали способ, основанный на способности активатора протеина С, полученного из яда щитомордника, удлинять время свертывания в АПТВ-тесте (Парус-тест, производитель «Технология-Стандарт»). Исследовали бедную тромбоцитами плазму 29 больных с АФС в возрасте от 18 до 39 лет. Диагноз АФС устанавливали на основе выявления у больных с тромбозами, инфарктами, невынашиванием беременности и другими тромботическими нарушениями волчаночного антикоагулянта (ВА). Сравнение проводили с группой 35 больных с тромботическими нарушениями, причина которых не была установлена и с контрольной группой, из 30 здоровых людей.

Функциональная неполноценность антикоагулянтной системы протеина С была выявлена у 20 из 29 больных с АФС. Показатель NR в целом по группе больных с АФС был равен 0,66±0,05 (n=28) и достоверно отличался от аналогичного показателя в группе больных с тромбозами без АФС 0,97±0,04 (P<0,001) и от контрольной группы здоровых людей 0,99±0,03 (P<0,001).

Полученные результаты свидетельствуют о глубоких нарушениях в антикоагулянтной системе протеина С и их высокой частоте у больных с АФС.

По своей структуре волчаночный антикоагулянт (ВА) относится к иммуноглобулинам, которые неспецифично ингибируют отрицательно заряженные фосфолипиды и тем самым удлиняют время свертывания крови в фосфолипид-зависимых методах исследования системы гемостаза *[З. С. Баркаган, 1989-2005; З. С. Баркаган и соавт., 1989-2001; Е. Л. Насонов и соавт., 1995; В. П. Балуда, М. В. Балуда, 1997; Г. В. Сердюк, 2005; M. Samama et al., 1993; D. G. Federman et al., 2001; J. Nojima et al., 2002; L.Heilmann et al., 2003; B. Namjou, 2003; S. L. Perry et al., 2003 и др.]*. Кроме того, инактивация фактора V протеинами С и S также происходит на фосфолипидных мембранах *[E. A. Norstrom et al., 2003]*, и поэтому ВА препятствует этому процессу. Высказывается предположение, что к развитию тромботических осложнений у больных с АФС приводит именно нарушение инактивации фактора Va активированным протеином С *[F. J. Munoz-Rodriguez et al., 2002; D.Oh et al., 2003]*. Для уточнения этого предположения мы определяли эффективность системы протеина С у больных с АФС при помощи разработанного нами метода.

Показатели NR у группы больных с АФС в контрольной группе и группе сравнения представлены на рисунке 1.

Из рисунка видно, что у больных с АФС (n=51) показатель NR в среднем составил 0,68±0,03, тогда как в группе сравнения этот показатель был равен 0,98±0,03(n=165, P<0,001), т.е. так же, как и в контрольной группе, 1,01±0,01 (n=147). Эти данные подтверждают важную роль нарушений в системе протеина С в формировании тромбогенности у больных с АФС.

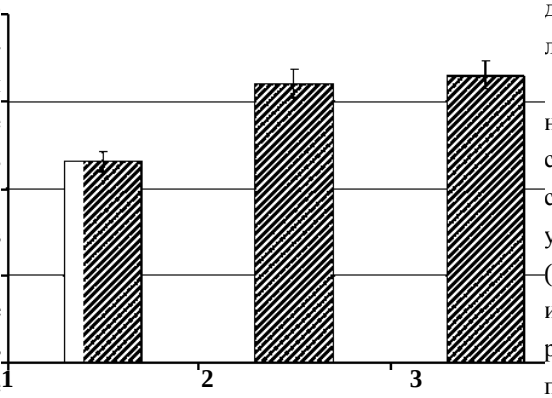


Рис. 1. Показатели NR, полученные у больных с АФС (1), в группе больных с тромбозами без АФС (2) и у здоровых людей (3).

После курса комплексного лечения, включающего применение дискретного плазмафереза, антикоагулянтов и дезагрегантов, показатель NR у больных с АФС достоверно повысился с 0,68±0,03 до 0,77±0,02 (P<0,02).

Представленные данные свидетельствуют о том, что у больных с АФС имеются глубокие нарушения в антикоагулянтной системе протеина С, которые устраняются после комплексного лечения с включением дискретного плазмафереза в комплекс лечебных мероприятий.

Для выявления связирецидивирования тромбозов при АФС и нарушений в системе протеина С мы использовали статистический критерий $\chi 2$. Было установлено, что из числа больных с АФС (n=51) нарушения в системе протеина С имелись у 24 больных. Из их числа рецидивы тромбозов были выявлены у 16 пациентов, а из 27 больных без нарушений в системе протеина С рецидивы тромбозов были обнаружены лишь у 6 больных. Частотный анализ показал связь нарушений в системе протеина С и рецидивов тромбозов у больных с АФС (P=0,0014).

Таким образом, в патогенезе рецидивов тромбозов у больных с АФС большое значение имеет нарушение функционирования антикоагулянтной системы протеина С, а показатель NR является прогностическим критерием рецидивирования тромбозов при этом заболевании.

Список литературы

1. Баркаган З. С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Проблемы гематол. и перелив. крови. — 1996. — № 3. — С. 5-15.

2. Баркаган З. С. Учение о тромбофилиях на современном этапе. // Консилиум, 2000, № 6, С. 61-65.

3. Баркаган З. С., Белых С. И. Дефицит протеина С и политромботический синдром, сцепленный с беременностью и невынашиваемостью плода. // Гематол. и трансфузиол. — 1992. — № 9-10. — С. 35-37.

4. Баркаган З. С., Белых С. И., Карпенко А. А. Клиническая характеристика, осложнения и проблемы терапии дефицита протеина С // Тер. архив. — 1993. — Т. 65. — № 7. — С. 58-61.

5. Баркаган З. С., Гервазиев В. Б., Цывкина Л. П. и др. Первый опыт диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью к активированному протеину С. // Тер. архив. — 1997. — № 2. — С. 35-37.

6. Баркаган З. С., Момот А. П. — Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2001. — 296 с.

7. Баркаган З. С., Момот А. П. Классификация и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Клиническая лабораторная диагностика, 1999, № 10, С. 38.

8. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н. Способ диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора V к активированному протеину С. Патент РФ № 2129282 от 20.04.1999 г. (Приоритет от 05.08.96.).

9. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н., Цеймах И. Я. Распространенность, диагностика и клиническое значение тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора Va к активированному протеину С. // Вестник Российской академии медицинских наук. — 1997. — № 2. — С. 39-41.

10. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н., Цеймах И. Я. К методике фенотипической диагностики резистентности к протеину С. // В кн: Тезисы докладов на III Всероссийской конференции «Тромбозы и геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения». — Москва, 1997. — С. 18-20.

11. Момот А. П., Ельчанинов В. В., Соколов Э. А., Мамаев А. Н., Коваль А. Д. Способ получения активатора протеина С. Приоритетная справка на изобретение № 2000130028, входящий № 031901, от 30.10.2000.

12. Мамаев А. Н., Момот А. П. Способ дифференциальной диагностики тромбофилий, обусловленных нарушениями в антикоагулянтной системе PC-PS-FVa. // Клиническая лабораторная диагностика, № 10, С. 46.

Тромбофилии при ревматоидном артрите: гемореологический аспект, возможности медикаментозной коррекции

В.Г. Лычев, А. В. Андриенко, В. В. Усынин, Д. С. Бубликов, И. В. Лычева

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения России», г. Барнаул

Статья посвящена гемореологическим аспектам тромбофилий при ревматоидном артрите и перспективам их медикаментозной коррекции. Нарушение реологических характеристик крови больных ревматоидным артритом выражается в виде повышения вязкости цельной крови и плазмы, а также повышения коэффициента жесткости эритроцитов. На фоне данных реологических изменений происходит повышение спонтанной эритроцитарной агрегации. С целью коррекции выявленных нарушений вязкостных свойств крови целесообразно применение реопротектора — пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis), на фоне чего статистически значимо снижается вязкость крови, коэффициент жесткости эритроцитов и их спонтанная агрегация.

Ключевые слова

Ревматоидный артрит, гемореология, вязкость крови, вязкость плазмы, коэффициент жесткости эритроцитов, спонтанная и стимулированная агрегация эритроцитов, иммунный васкулит, пентоксифиллин.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) характеризуется высоким процентом распространенности (0,6% населения России), поражением лиц трудоспособного возраста и неуклонно-прогредиентным течением с ранней инвалидизацией и преждевременной смертностью [1, 2]. При этом причина смертности больных РА заключается в смерти от атеротромботических осложнений болезней системы кровообращения [3]. Для системного РА лидирующей причиной инвалидизации и смертности являются тромботические осложнения иммунного васкулита [4, 5]. Кроме влияния «классических» факторов риска (ФР) кардиоваскулярной патологии на развитие атеротромботических событий, больные РА подвержены воздействию «внутринозологических» ФР: хронический воспалительный фон, развитие мультифокального васкулита, побочное действие глюкокортикоидов, нестероидных противовоспалительных средств, иммунодепрессантов и цитостатиков. Эти «новые» ФР сосудистой патологии способны запускать каскад повреждения эндотелия, вызывать проатерогенный сдвиг

липидограммы и протромботический сдвиг в системе гемокоагуляции [6, 7]. Эндотелиальная дисфункция, возникающая у больных РА, способствует формированию нарушений гемодинамики атеросклеротического генеза, вы-

зывающих стаз крови [8]. Иммунный васкулит при РА в своем патогенезе имеет общие черты с «триадой R. Wirchoff», а именно: повреждение эндотелия, стаз крови и прокоагуляционные изменения в системе гемостаза. Таким образом, РА сам по себе является ФР атеротромбоза. Исходя из вышесказанного, целесообразно в схему ведения больных РА включать препараты, оказывающие протективное воздействие на систему микроциркуляции крови. Однако для целенаправленного и обоснованного их назначения необходимо детальное исследование всех аспектов системы гемостаза и гемореологии при РА.

На сегодняшний день достаточно подробно описаны циркулирующие в сыворотке крови больных РА маркеры гиперкоагуляции по системе «классических факторов» гемостаза [6].

Однако в литературе имеется мало сведений об изменении реологических свойств крови при РА, в то время как изменение вязкостных характеристик крови является фактором риска значимых нарушений гемодинамики [7, 8]. Таким образом, для своевременной профилактики, диагностики и рационального лечения кардиоваскулярных осложнений РА требуется пристальное внимание не только к «классическим» ФР атеротромбоза и плазменным коагуляционным факторам гемостаза, но и к «новым» ФР, в том числе к изменениям реологии крови, с целью снижения частоты инвалидизации и смертности больных РА.

Целью исследования стало изучение особенностей реологических параметров крови у больных РА и путей медикаментозной коррекции выявленных нарушений для предупреждения тромботических осложнений системного иммунного васкулита.

Пациенты и методы

В исследование нами были включены две группы — основная, куда вошли пациенты с документированным РА (n=75), находящиеся на стационарном лечении в городском ревматологическом центре г. Барнаула, и контрольная, состоящая из лиц без проявлений суставных заболеваний по данным расспроса, анамнеза и медицинской документации (n=85). Критериями включения в основную группу стало наличие документированного РА, длительность заболевания более одного года, серопозитивность по ревматоидному фактору II-III степень активности и II-III рентенологическая стадия. Критериями исключения из обеих групп стали возраст старше 70 лет, декомпенсация сопутствующей патологии, онкологические заболевания, беременность. В исследование были включены лица женского пола по причине наличия гендерных различий в частоте встречаемости РА среди женской популяции и большей распространенности системного иммунного васкулита среди мужчин, больных РА [9]. Средний возраст лиц основной группы составил 57,04+5,24 года, что было сопоставимо с группой контроля, где средний возраст был равен 53,21+2,11 года. Оценка гемореологического статуса проводилась на вискозиметре авторской конструкции (Усынин В. В., Пронин С. П., 1992) с определением параметров вязкости цельной крови (ВК) и вязкости плазмы (ВП) в объемных единицах, жесткости эритроцитов (ЖЭ), спонтанной (СпА) и стимулированной агрегации эритроцитов (СтА) в условных единицах.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи программ Microsoft Excel-2003, Statsoft «Statistica 6.0», с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В основной группе ВК составила 2,95+0,54 о.е., что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля, где ВК достигла 1,73+0,43 о.е. ($p<0,05$). В отношении ВП также получены статистически значимые различия между группой контроля, где она составила 1,18+0,33 о.е. и основной группой, в которой зафиксировано повышение ВП до 2,79+0,77 о.е. ($p<0,05$). ЖЭ в группе больных РА приблизилась к 3,45+0,43, что было статистически значимо выше, чем в группе контроля, в которой ЖЭ была на уровне 1,18+0,24 ($p<0,01$). СпА в основной группе составила 5,32+1,12 у.е., что было статистически значимо выше по сравнению с

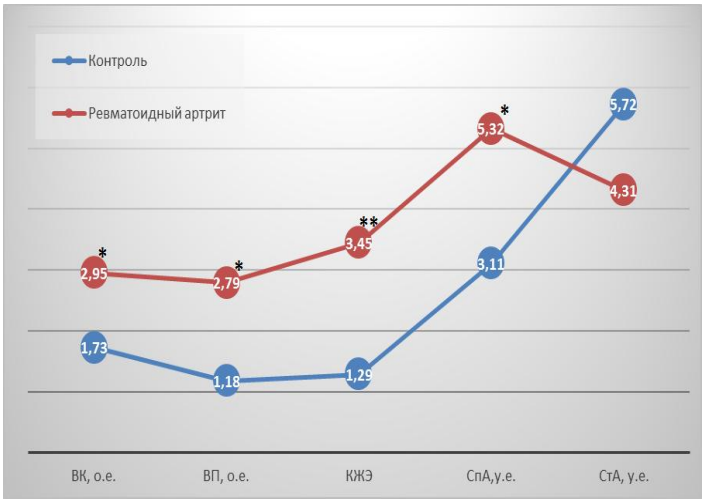


Рис. 1. Гемореограмма больных ревматоидным артритом в сравнении с группой контроля.

Примечание: * - различия статистически значимы при p<0,05,

***** - различия статистически значимы при p<0,01***

группой контроля, где СпА равнялась 3,1+0,62 у.е. ($p<0,05$). В отношении СтА мы не получили статистически значимых различий между исследуемыми группами (рис. 1). Таким

образом, в группе больных РА наблюдается статистически значимое повышение ВК за счет возрастания как ВП, так и ЖЭ.

По результатам проведенного исследования реологических свойств крови больных РА можно предполагать, что повышенная агрегация эритроцитов является следствием повышения ЖЭ за счет осаждения коллоидов сыворотки и изменения деформируемости мембран эритроцитов. Таким образом, с целью коррекции повышенной агрегационной способности эритроцитов больным РА целесообразно назначать эритроцитарные антиагреганты, одним из которых является пентоксифиллин (Трентал®, Sanofi aventis). С целью коррекции выявленных реологических нарушений данный препарат был назначен нами в основной группе в начальной суточной дозе 600 миллиграммов.

На фоне применения пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis) (рис. 2) СпА составила 3,43+1,12 у.е., что было статистически значимо ниже по сравнению со СпА до назначения эритроцитарного антиагреганта, составлявшей 5,32+1,12 у.е. ($p<0,05$).

СтА имела тенденцию к повышению, однако статистической значимости между полученными данными до применения препарата и на фоне его применения получено не было ($p>0,05$). ВК на фоне применения пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis) статистически значимо снизилась с 2,95+0,54 о.е. до 1,92+0,33 о.е. ($p<0,05$). Показатели ВП на фоне применения препарата по сравнению с показателями ВП до его применения статистически значимо не изменились ($p>0,05$). ЖЭ на фоне снизился до 1,15+0,12, что оказалось статистически значимо по сравнению с показателями до его применения, составлявшими 3,45+0,43 ($p<0,05$).

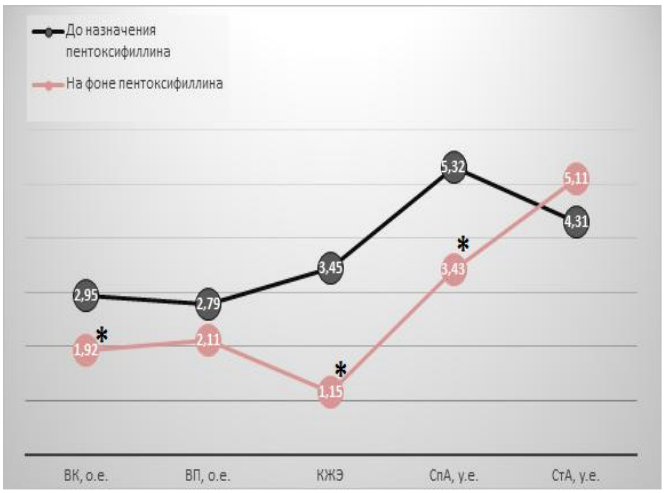


Рис.2. Гемореограмма больных ревматоидным артритом на фоне применения пентоксифиллина.

Примечание: * - различия статистически значимы при p<0,05

Заключение

Таким образом, РА ассоциируется с развитием гемореологической тромбофилии, выражающейся в повышении вязкостных свойств цельной крови и плазмы, снижении деформируемости эритроцитов, что проявляется в виде повышения ЖЭ и СпА.

Для фармакологической коррекции выявленных нарушений целесообразно назначать эритроцитарные антиагреганты, в частности пентоксифиллин (Трентал®, Sanofi aventis) в начальной суточной дозе 600 миллиграммов. Для контроля эффективности проводимой терапии необходимо исследование гемореограммы в динамике с возможной коррекцией дозировки препарата.

Список литературы

1. Фоломеева О. М., Галушко Е. А., Эрдес Ш. Ф. Распространенность ревматических заболеваний в популяции населения России и США // Научно-практическая ревматология. — 2008. — № 4. — С. 4-14.

2. Gabriel S. E. The epidemiology of rheumatoid arthritis // Rheum. Dis. Clin. North Amer. — 2001. — Vol. 27. — P. 269-281.

3. Hall F. C., Dalbeth N., Disease modification and cardiovascular risk reduction: two sides of the same coins? // Rheumatology — 2005. — Vol. 4. — P. 2-10.

4. Kaplan MJ. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis // Curr. Opin. Rheumatol. — 2006. — Vol. 18. — P 289-297.

5. Gonzales-Gay M. A. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis / Gonzales-Gay M. A., Gonzalez- Juanatey C., Miranda-Filloy J. A., Garcia-Porrua C., Llorca J., Martin J. // Biomed Pharmacother. — 2006. — Vol. 60. — P. 673-677.

6. Куковякин А. А. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза у больных ревматоидным артритом: Автореф. дис. канд. мед. наук / А. А. Куковякин. — Новосибирск, 2000. — 23 с.

7. Durussel J. J. Effects of red blood cell hyperaggregation on the rat microcirculation blood flow / Acta Physiol. Scand. — 1998. — Vol. 163. — № 1. — P. 25-32.

8. Фатенков В. Н. Нарушения в структуре мембран эритроцитов у больных инфарктом миокарда / В. Н. Фатенков, Е. Г. Зарубина, М. Н. Милякова // Кардиология. — 2002. —№ 6 — С. 54-57.

9. Балабанова Р. М. Ревматоидный артрит с системными проявлениями: Автореф. дис. д-ра мед. наук / Р. М. Балабанова. — М., 1990. — 36 с.

ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

˚Коллектив авторов, 2013

А.П. МОМОТ, И.А. ТАРАНЕНКО, Л.П. ЦЫВКИНА

ЭВОЛЮЦИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ТРОМБОФИЛИИ И ЕЕ РОЛИ В ПРОБЛЕМАХ РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Барнаул, Россия

В статье представлены новые взгляды на состояние тромбофилии и факторы тромбогенного риска, предшествующие и сопутствующие тромбозам и проблемам репродукции человека. Предложено понятие «состояние тромботической готовности», описывающее клинические и лабораторные проявления активации свертывания крови, в том числе на фоне терапии антикоагулянтами. Приведенные положения иллюстрированы результатами собственных клинических исследований.

Ключевые слова: тромбофилия, факторы тромбогенного риска, беременность, тромбопрофилактика.

A.P. MOMOT, I.A. TARANENKO, L.P. TSYVKINA

EVOLUTION OF IDEAS ON THROMBOPHILIA AND ITS ROLE IN HUMAN REPRODUCTION PROBLEMS

Altai Branch, Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia, Barnaul, Russia

The paper gives new views of the thrombophilic state and thrombogenic risk factors that precede and accompany thrombosis and human reproduction problems. The concept "thrombotic readiness state" describing the clinical and laboratory manifestations of activated blood coagulation, including that during anticoagulant therapy, is proposed. The given propositions are illustrated by the results of the authors' clinical trials.

Key words: thrombophilia, thrombogenic risk factors, pregnancy, thrombus prevention.

Тромбофилия в акушерской практике на протяжении последних двух десятилетий завоевала прочные позиции в объяснении причин бесплодия и синдрома потери плода. Тем не менее мы полагаем, что этот серьезный диагноз в большинстве случаев устанавливается неправомерно, что способствует необоснованной и опасной полипрагмазии [1—3].

При изучении и оценке любых многокомпонентных и взаимосвязанных систем решающее значение имеет общее понимание терминологии (дефиниции), прежде всего, в познании процессов, происходящих в организме и описываемых исследователем/врачом. Многие термины и понятия, такие как «коагулопатия потребления», «агрегатное состояние крови», «непрямые антикоагулянты» и другие, глубоко историчны и не вполне отвечают современным представлениям о механизмах и средствах коррекции гемостаза. Поскольку одно из них — тромбофилия — закономерно ассоциируется с тромбозами различной локализации, мы остановимся на таких понятиях, как «тромбофилия», «факторы риска тромбоза», «гиперкоагуляционное состояние/синдром», «тромбоз» и некоторых других, находящихся в логической связи и описывающих клиническую последовательность событий. Это представляется важным для дальнейшего формирования корректных подходов к началу тромбопрофилактики (первичной, вторичной) и лечению венозных тромбоэмболических осложнений.

Цель данной публикации — привлечь внимание акушеров-гинекологов к новому взгляду на проблему тромбофилии и идеям, имеющим отношение к диагностике и лечению претромботических состояний, лежащих в основе многих видов акушерской патологии.

Сведения об авторах:
Момот *Андрей Павлович*, доктор медицинских наук, профессор, директор Алтайского филиала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России Адрес: 656024, Россия, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1. Телефон: (3832) 68-98-00. E-mail: xyzan@yandex.ru
***Тараненко Ирина Алексеевна*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Алтайского филиала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России**
Адрес: 656024, Россия, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1. Телефон: (3832) 68-98-80. E-mail: tarania@mail.ru
***Цывкина Людмила Петровна*, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Алтайского филиала ФГБУ Г ематологический научный центр Минздрава России**
Адрес: 656024, Россия, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1. Телефон: (3832) 68-98-80. E-mail: katerina-cyvkina@mail.ru

В соответствии с определением проф. З.С. Барка- гана [4], система гемостаза представляет собой давно **сформировавшуюся биологическую систему, обес**печивающую, с одной стороны, сохранение жидкого состояния крови, а с другой — предупреждение и остановку кровотечений путем поддержания структурной целостности стенок кровеносных сосудов и быстрого тромбирования последних при повреждениях [5]. Необходимо разграничить понятия «фактор тромбогенного риска» и «тромбофилия». Большинство людей, носителей постоянных или временных факторов риска тромбоза, ими не страдают на протяжении длительного периода жизни, хотя и имеют вероятность развития этой патологии [6, 7]. Что же можно отнести к факторам тромбогенного риска? Учитывая многолетний клинический опыт мы считаем, что к ***факторам тромбогенного риска*** следует относить постоянные (генетически обусловленные) и временные (вторичные, действующие в определенный промежуток времени) отклонения и индивидуальные особенности человека, способные в различных сочетаниях привести к развитию тромботической готовности и в последующем - появлению тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов, серьезным и известным проблемам в области репродукции человека.

Термины «тромбофилия» и «повышенная свертываемость крови» часто используют как синонимы, в то время как, на самом деле, эти понятия различны. Повышенная свертываемость крови или «гиперкоагуляционный синдром/состояние» - это лабораторный феномен, посредством которого специальными методами анализа системы гемостаза распознаются активация тромбоцитов и процессы образования фибрина, подавление фибринолитических реакций, повреждение эндотелия кровеносных сосудов. Однако на практике повышенная склонность к тромбообразованию может сопровождаться парадоксальным, на первый взгляд, замедлением свертывания крови в связи с выработкой антифосфолипидных антител/волчаночного антикоагулянта или дисфибриногенемией, при развитии варфариновых некрозов кожи или гепарин-индуцированной тромбоцитопении. Эти состояния противоречат смыслу терминов «гиперкоагуляционный синдром/состояние» и делают их несостоятельными и устаревшими [8, 9].

Мы предлагаем альтернативное, клинически оправданное понятие — ***состояние тромботической готовности,*** которое способно объединить в себе лабораторно выявляемую гиперкоагуляцию, высокий уровень маркеров внутрисосудис- того свертывания крови, а также ряд клинических признаков предтромбоза (увеличение вязкости крови, замедление кровотока, по данным дуплексного ангиосканирования венозного кровотока, перманентные признаки органной дисфункции, тромбирование иглы при венепункции, нарушение фетоплацентарного кровотока, гипотрофия плода, нарушение сроков миграции или частичная отслойка плаценты и др.). Соответственно реализация этой готовности при сохраняющихся факторах риска и их умножении (операцией, травмой, иммобилизацией, системным воспалительным процессом, онкологическим заболеванием, сахарным диабетом, сердечной недостаточностью, приемом эстрогенов, поздним сроком беременности) с высокой вероятностью способна проявиться сосудистой катастрофой [9].

Принято считать, что тромбозу и синдрому потери плода предшествует и сопутствует тромбофилия [10—14]. Что же понимается под тромбо- филией сегодня? В 1995 г. Всемирная организация здравоохранения и Международное общество по тромбозу и гемостазу (The International Society on Thrombosis and Haemostasis — ISTH) определили тромбофилию как необычную наклонность к тромбозу с ранним возрастным началом, отяго- щенностью семейного анамнеза, степенью тяжести тромбоза, непропорциональной известному причинному фактору и эпизодам рецидивов тромбоза. Согласно определению проф. З.С. Баркагана (1996, 2005) [15, 16], под тромбофилией должны пониматься все наследственные (генетически обусловленные) и приобретенные (вторичные, симптоматические) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов. В клинических же рекомендациях Американской коллегии торакальных врачей по антитромбо- тической и тромболитической терапии (ACCP, 2008) тромбофилия устанавливается при наличии одного или более из следующего списка признаков: дефицит антитромбина III, дефицит протеина С, дефицит протеина S, резистентность фактора V к активированному протеину С, мутация фактор V Лейден, мутация протромбина (F II) G 20210A, гипергомоцистеинемия, гомозиготное носительство термолабильного варианта метилен-тетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), антифос-фолипидных антител или волчаночного антикоагулянта, увеличение активности фактора VIII или сниженный уровень протеина Z [17].

Можно видеть, что развитие взглядов на тромбофилию зашло в тупик, поскольку ее наличие у человека отождествляется лишь с носительством того или иного известного фактора (или факторов) тромбогенного риска. И частое заблуждение среди клиницистов сегодня - замена понятия «фактор (или факторы) тромбогенного риска» на понятие «тромбофилия». Иными словами, носительство той или иной известной протромбогенной мутации или полиморфизма генов (участников гемостатических реакций и обмена метионина), как правило, рассматривается и диагностируется как тромбофилия, нанося моральный и иной вред пациентам. К сожалению, свой вклад вносит и неправомерное использование во врачебных заключениях слова «мутация» при определении полиморфизмов (а значит вариантов нормы по современным представлениям!) ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), MTHFR, фибриногена, рецептора тромбоцитов GP IIIA и ряда других.

В ходе клинико-генетических исследований, проведенных в период 2010-2012 гг. Алтайским филиалом Гематологического научного центра (ГНЦ) Минздрава совместно с лабораторией фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и кафедрами педиатрии Алтайского государственного медицинского университета, в случайной выборке у 1915 жителей Алтайского края

кавказской расы и без явных признаков соматической патологии, носительство хотя бы одной из четырех наиболее известных тромбогенных мутаций и полиморфизмов установлено в 91,8% случаев [2, 9]. Но это не значит, что все эти люди «страдают» тромбофилией и их необходимо лечить.

Согласно рекомендациям ISTH, диагноз АФС считается достоверным при сочетании хотя бы одного или более клинических проявлений данной патологии (сосудистый тромбоз, патология беременности) с результатами специальных лабораторных признаков (эффекты волчаночного антикоагулянта, антифосфолипидные антитела в диагностическом титре) [18]. Мы считаем возможным и необходимым распространить данный подход в диагностическую практику (обязательное сочетание тех или иных факторов риска наряду с состоявшимся тромбозом или синдромом потери плода) на все возможные варианты тромбофилии, что позволит устранить терминологическую путаницу и ошибки в диагностике и определении тактики лечения.

Очевидно, что тромбофилия, по существу, не является болезнью, но являет собой патологическое состояние, обусловленное комбинацией факторов риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), информация о котором (которых) может быть получена из данных индивидуального анамнеза и соответствующей медицинской документации. Понимание и принятие данного положения имеет принципиальное значение, поскольку восприимчивость к болезни не подразумевает под собой наличия показаний для медикаментозной тромбопрофилактики или проведения антитромботической терапии.

Классификация факторов тромбогенного риска

В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска, способных самостоятельно или чаще в своих сочетаниях привести к сосудистой катастрофе [19, 20]. К числу наиболее значимых факторов тромбогенного риска относятся:

- личный и семейный тромботический анамнез;
- глубокий дефицит физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, витамин К-зависимых протеинов С, S, ингибитора внешнего пути свертывания - TFPI);
- образование в крови антифосфолипидных антител, в том числе обладающих свойствами волчаночного антикоагулянта;
- мутации и полиморфизмы генов — участников гемостатических реакций (фактор V Лейден, F II, PAI-1, полиморфизм генов, участвующих в обмене метионина);
- стойкое увеличение концентрации и/или активности факторов свертывания крови: фибриногена, факторов II, VIII, IX или XI;
- ряд гематологических заболеваний, сопровождающихся патологией эритроцитов и тромбоцитов (врожденные полиглобулии, серповидно-клеточная анемия, талассемия, синдром «липких» тромбоцитов);
- сосудистые аномалии (мальформации, арте- риовенозные шунты, варикозная болезнь, повышенная извитость сонных артерий и др.), врожденные пороки сердца;
- наличие инородных тел в сердце и сосудах (протезы клапанов, стенты, фильтры, катетеры);
- тяжелые травмы и операции, сопутствующая гиподинамия и инфекционно-воспалительные процессы;
- злокачественные новообразования.

Ряд специалистов отрицают значимость генетической предрасположенности в развитии тромбоза, что аргументируется не всегда видимой связью между этими явлениями. Действительно, прямая ассоциация может быть сомнительной, о чем свидетельствует ряд публикаций [21]. Согласно Heit и соавт. [22], кумулятивная пожизненная вероятность возникновения тромбоза (пенетрантность) среди носителей наиболее часто встречающейся семейной тромбофилии (фактор V Лейден) составляет лишь около 10%. Таким образом, примерно у 90% носителей этой аномалии имеется лишь постоянный врожденный фактор риска [21]. Тем не менее мы считаем, что такая связь объективна и обоснована, но ее необходимо оценивать в контексте присутствия у человека не какого- либо одного фактора риска, а их комбинаций, в том числе сочетания врожденных (постоянных) и приобретенных (временных, преходящих и длительно действующих) факторов риска, обусловливающих во всех случаях мультигенное происхождение тромбофилии. Так, в соответствии с имеющимися в литературе данными, риск венозных тромбоэмболических осложнений (ВТО) среди носителей мутации фактор V Лейден увеличивается с возрастом; большинство случаев происходит в возрасте старше 50—55 лет [23, 24]. У гомозиготных носителей мутации фактор V Leiden этот риск может быть еще выше под воздействием окружающей среды или других генетических факторов риска [25]. Пенетрантность фенотипа тромбоза увеличивается среди пациентов с многочисленными генетическими дефектами (например, при сопутствующем дефиците антитромбина III, протеинов С или S) [26]. Этот же показатель зависит от клинического воздействия приобретенных факторов риска, таких как применение эстрогенсодержащих контрацептивов, беременности или оперативного вмешательства. В частности, относительный риск венозных тромбоэмболических осложнений среди носителей мутации фактор V Leiden, принимающих эстрогены, увеличивается в 30 раз [27, 28]. Мы считаем устаревшим принятое деление этих факторов на наследственные (врожденные) и приобретенные, поскольку подавляющее большинство заболеваний и отклонений у человека, по современным данным, генетически детерминировано (артериальная гипертензия, сахарный диабет, гипергомоцистеинемия, аутоиммунные заболевания, ожирение, полиглобулия, гемоглобинопатии и др.). В основу классификации факторов тромбогенного риска необходимо положить *длительность* воздействия на организм человека и *управляемость* со стороны пациента или с помощью средств современной медицины для снижения вероятности формирования состояния тромботической готовности и последующего тромбоза.

Неуправляемые факторы риска — возраст, семейный и личный тромботический анамнез, носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов, гиподинамия,

связанная с тяжелой травмой, не «0» группа крови и рад других не поддаются коррекции и сопутствуют человеку пожизненно. Гораздо более многочисленны временные и сравнительно более управляемые факторы риска, которые в свою очередь могут быть разделены на *связанные с образом жизни* (вредные привычки, гиподинамия, физический или психический дисстресс), *индивидуальными особенностями* (беременность), *обусловленные болезнью* или патологическим состоянием (сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь, нарушения ритма сердца) и *ятрогенные* — вызванные медицинским вмешательством (операцией, приемом рада медикаментов, в том числе содержащих эстрогены). Если современные возможности медицины ограничены в радикальном исправлении пожизненно действующих факторов риска, то, например замещение дефицита физиологических антикоагулянтов, гепаринопрофилак- тика, применение фолатно-витаминного комплекса при избыточном содержании в крови гомоцистеина (более 15 мкмоль/л) и другие виды патогенетической терапии позволяют модифицировать предрасположенность к тромбозу, снижая вероятность его манифестации [9, 29, 30].

Эти идеи реализованы нами в пилотном проекте при формировании группы высокого тромбогенного риска в сплошной выборке детей в возрасте до 15 лет, проживающих на территории Алтайского края. С учетом данных генетического тестирования и результатов анкетирования (для выявления дополнительных факторов риска) в данную группу были отнесены 70 (4,39%) из 1595 детей, что, однако, не было конечной целью исследования. В каждом конкретном случае у отобранных проблемных детей были выделены управляемые факторы тромбогенного риска и проявления предтромбоза (гипергомоцистеинемия, прием эстрогенов, занятие игровыми видами спорта, наличие хронических инфекций, соматической патологии, вредных привычек), модификация которых с участием специалистов педиатрического профиля и составила основу и начало проведения первичной тромбопрофилактики в онтогенезе [2]. Предложенный нами алгоритм формирования группы высокого тромбогенного риска у детей и технология первичной тромбопрофилактики на базе Центров здоровья в материалах соответствующих методических рекомендаций поддержан руководством ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Критерии диагностики состояния тромботической готовности, дающие основание для начала медикаментозной тромбопрофилактики

Состояние тромботической готовности обычно формируется при кооперации различных факторов тромбогенного риска и непосредственно предшествует тромбозу или сопровождает его при неэффективности антитромботической терапии. При этом генетическая детерминированность не означает обязательной ее реализации в данный момент времени в тех или иных сдвигах, способствующих тромбозу или неудачам репродукции [31].

С практической точки зрения, учитывая современные возможности клинико-диагностических лабораторий и наш опыт работы, можно считать необходимым определение следующих показателей тромбогенной опасности - повышения уровня маркеров тромбинемии и активации тромбоцитов, гипергомоцистеинемии, проявлений эндотелиопа- тии, полиглобулии, а также нарастания уровня С-реактивного белка как интегрального маркера воспалительной реакции, связанной с реакциями гемостаза [32-34]. В этом направлении большие перспективы имеет также недавно появившийся тест калиброванной тромбографии (тест генерации тромбина), позволяющий с высокой точностью измерять динамику как образования, так и инактивации тромбина — ключевого фермента свертывания крови [35, 36]. Данный тест реагирует на любые посылы к активации свертывания крови и в связи с этим носит интегральный характер.

Широкое внедрение в клинику технологии распознавания состояния тромботической готовности (а не наличия факторов тромбогенного риска!) позволит, как показали наши исследования, получать объективные предпосылки для начала проведения медикаментозной тромбопрофилактики [37, 38].

Принципиально важно своевременно отслеживать состояние тромботической готовности у носителей постоянных факторов риска, прежде всего, у больных тромбофилией, поскольку тромбинемия, депрессия физиологических антикоагулянтов и фибринолиза, наряду со стазом и повреждением сосудистой стенки предопределяют близкий и далеко не всегда клинически проявляемый тромбоз.

Дифференцированная тромбопрофилактика на примере улучшения результатов вспомогательных репродуктивных технологий

Очевидно, что управляемость факторов тромбогенного риска различна и она должна рассматриваться с точки зрения как этиологии, так и патогенеза внутрисосудистого тромбообразования. Своевременное и обоснованное использование доступных методов тромбопрофилактики позволяет модифицировать предрасположенность к активации свертывания крови и добиться лучших результатов лечения больных. В этом направлении в 2010—2012 гг. в Алтайском филиале ГНЦ проведено оригинальное исследование, посвященное изучению и индивидуальной коррекции ряда факторов неудач при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО). Как известно, преодоление проблемы бесплодия - одно из важных направлений в современном акушерстве [14, 39, 40]. Исследованиями, проведенными с участием 327 женщин, установлено, что для успешного исхода ЭКО, помимо традиционных для репро- дуктологов факторов риска неудач, решающее значение имеют высокая тромбогенность крови (на фоне нагрузки эстрогенами) и депрессия фиб- ринолитической активности крови, в совокупности снижающие вероятность наступления беременности в 12,1 раза. В ходе работы были определены и обоснованы чувствительные критерии для отбора пациенток с высоким риском неудачи ЭКО. В их число вошли такие проявления состояния тромботической готовности, как избыточная генерация тромбина и снижение фибринолитической активности сосудистой стенки. В ней также впервые был предложен и апробирован метод перемежающей пневматической

компрессии (ППК) для коррекции гипофибринолиза при бесплодии и при вынашивании беременности [38, 41]. Проведение терапевтической коррекции выявленных нарушений (гепаринопрофилактика, ППК сосудов верхних конечностей) позволило значительно увеличить частоту положительных исходов ЭКО. В частности, комбинирование вазокомпрессии с профилактическими дозами низкомолекулярного гепарина привело к увеличению числа эпизодов наступления беременности в наиболее проблемной группе пациенток в 6,5 раза (с 7,1 до 45,9%).

Мы считаем, что в понимании проблемы тромбофилии могут и должны произойти серьезные перемены, призванные повысить значимость этого понятия в оказании помощи больным и фенотипически здоровым женщинам при проблемах репродукции, профилактике и лечении артериальных и венозных тромбозов, тем самым содействуя повышению качества жизни наших соотечественников. С учетом новых знаний и представлений необходимо различать понятия «тромбофилия», «факторы тромбогенного риска» и «состояние тромботической готовности», наличие которых предполагает различную тактику профилактических и лечебных мероприятий.

Литература

1. *Радзинский В.Е.* Акушерская агрессия. М.: Медиабюро Статус презенс; 2011. 688 с.
2. *Строзенко Л.А., Момот А.П., Лобанов Ю.Ф., Тараненко И.А., Сердюк Г.В.* Факторы тромбогенного риска и состояние здоровья подростков г. Барнаула. Медицина и образование в Сибири: Электронный научный журнал. 2012; 2. http://www. ngmu.ru/cozo/ mos/ article/text_ full. php?id=683.
3. *Ушкалова Е.А., Ткачева О.Н., Чухарева Н.А.* Проблемы безопасности применения лекарственных средств во время беременности и кормления грудью. Акушерство и гинекология. 2011; 2: 4—7.
4. *Баркаган З.С.* Геморрагические заболевания и синдромы. М.: Медицина; 1980. 336 с.
5. *Момот А.П., Баркаган З.С.* Исследование системы гемостаза у лиц пожилого возраста: основные цели и методы. Клиническая геронтология. 2007; 4: 44—9.
6. *Bovill E., Hasstedt S., Leppert M., Long L.* Hereditary thrombophilia as a model for multigenic disease. Thromb. Haemost. 1999; 82: 662-6.
7. *Makris M.* Thrombophilia: grading the risk. Blood. 2009; 113(21): 5038-9.
8. *Момот А.П.* Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Форма Т; 2006. 208 с.
9. *Момот А.П.,* ред. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета; 2011. 138 с.
10. *Bonnar J.* Hypercoagulable states and pregnancy. In: Seghatchian M., Samama M., Hecker S., eds. Hypercoagulable states: fundamental aspects, acquired disorders, and congenital thrombophilia. Boca Raton; New York; London; Tokyo: CRS Press. Inc.; 1996: 253-7.
11. *Braekkan S.K., Mathiesen E.B., Njolstad I., Wilsgaard T., Hansen J.-B.* Hematocrit and risk of venous thromboembolism in a general population. The Tromso study. Haematologica. 2010; 95(2): 270-5.
12. *Christiansen S., Cannegieter S. C., Koster T., Vandenbroucke J.P., Rosendaal F.R.* Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. JAMA. 2005; 293 (19): 2352—61.
13. *Geerts W.H., Pineo G.F., Heit J.A., Bergqvist D., Lassen M.R., Colwell C. W., Ray J. G.* Prevention of venous thromboembolism: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest. 2004; 126(Suppl. 3): 338-400.
14. *Макацария А.Д.,* ред. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике. М.: МИА; 2011. 1056 с.
15. *Баркаган З.С.* Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. Проблемы гематологии и переливания крови. 1996; 3: 5-15.
16. *Баркаган З.С.* Гемостаз. В кн.: Воробьев А.И., ред. Руководство по гематологии. 3-е изд. т. 3. М.: Ньюдиамед; 2005: 9-147.
17. *Bates S.M., Greer I.A., Pabinger I, Sofaer S., Hirsh J.,* American College of Chest Physicians. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest. 2008; 133(Suppl. 6): 844-86.
18. *Harris E., Pierangeli S.* Primary, secondary and catastrophic antiphospholipid syndrome: what's in a name. Semin. Thromb. Hemost. 2008; 34: 219-26.
19. *Douketis J.D., Spyropoulos A.C., Spencer F.A., Mayr M., Jaffer A.K., Eckman M.H.* et al.; American College of Chest Physicians. Perioperative management of antithrombotic therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence- Based Clinical Practice Guidelines. Chest. 2012; 141 (Suppl. 2): 326-50.
20. *Prandoni P.* Acquired risk factors for venous thromboembolism in medical patients. Hematology. Am. Soc. Hematol Educ. Program. 2005: 458—61.
21. *Martinelli I., Manucci P.M., De Stefano V, Taioli E., Rossi V, Crosti F.* et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. Blood. 1998; 92 (7): 2353-8.
22. *Heit J.* Thrombophilia: clinical and laboratory assessment and management. In: Kithens C.S., Alving B.M., Kessler C.M., eds. Consultative hemostasis and thrombosis. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2007: 213-44.
23. *Heit J.A., Sobell J.L., Li H., Sommer S. S.* The incidence of venous thromboembolism among Factor V Leiden carriers: A community-based cohort study. J. Thromb. Haemost. 2005; 3(2): 305-11.
24. *Juul K., Tybjaerg-Hansen A., Schnohr P., Nordestgaard B.G.* Factor V Leiden and the risk for venous thromboembolism in the adult Danish population. Ann. Intern. Med. 2004; 140: 330-7.
25. *Ehrenforth S., Nemes L., Mannhalter C., Rosendaal F.R., KoderS., Zoghlami-Rintelen C.* et al. Impact of environmental and hereditary risk factors on the clinical manifestation of thrombophilia in homozygous carriers of factor V:G1691 A. J. Thromb. Haemost. 2004; 2(3): 430—6.

Экстракорпоральное оплодотворение и управление гемостазом

Д.м.н., проф. А.П. МОМОТ[1], асп. И.В. ЛЫДИНА[2], к.м.н. О.Г. БОРИСОВА[2], д.м.н., проф. В.А. ЕЛЫКОМОВ[2], д.м.н., проф Л.П. ЦЫВКИНА[1]

[1]Алтаискии филиал ФГБУ «Гематологическим научный центр» Минздрава России; [2]Краевое ГБУ «Краевая клиническая больница», Барнаул

Для решения проблемы бесплодия используется ЭКО, неудачи которого связываются с рядом причин, в том числе с нарушениями в системе гемостаза. В настоящей работе прослежена связь избыточной генерации тромбина и гипофибринолиза с неудачами ЭКО (снижение вероятности наступления беременности в 12,1 раза). На основе отобранных лабораторных параметров были сформированы группы женщин для терапевтической коррекции (гепаринопрофилактика и/или вазокомпрессия) в цикле ЭКО. В результате предпринятого лечения удалось повысить в 4,7 раза частоту наступления беременности у 98 женщин с нарушениями гемостаза и гипофибринолизом.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, беременность, факторы риска, генерация тромбина, гипофибринолиз, гепаринопрофилактика, вазокомпрессия.

Проблема бесплодия имеет медицинское, социально-демографическое и экономическое значение в большинстве развитых стран мира. Для преодоления бесплодия в рамках впомогательных репродуктивных технологий используется экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) преовуляторных ооцитов и переноса дробящихся эмбрионов в полость матки пациентки [1]. Тем не менее частота развития беременности при ЭКО сравнительно низка — 25—30%, причем за последние годы этот показатель значительно не меняется [2]. Это связано с большим разнообразием факторов, влияющих на результат имплантации после пересадки эмбриона [3]. В их числе указываются низкий овариальный резерв, возраст супругов, избыточная масса тела, эндокринные нарушения в системе гипоталамус—гипофиз—яичники, надпочечниковой и тиреоидной системах, тромбофилия, снижение имплантационных свойств эндометрия, количество и качество переносимых эмбрионов, а также кратность переносов [4—6].

Считается, что неудачи ЭКО могут быть обусловлены как тромбогенностью самой медицинской технологии (эстроген-гестагеновая нагрузка), так и возможным наличием у женщин известных факторов тромбогенного риска и склонности к внутрисосудистому свертыванию крови/тромбофилии. Тем не менее анализ литературы показывает неоднозначность мнения специалистов относительно роли ряда мутаций и полиморфизмов генов — участников системы гемостаза и антифосфолипидного синдрома (АФС) в развитии бесплодия и неудач возникновения ЭКО [7—9]. Мы, как и ряд отечественных авторов [10, 11], считаем, что эти ассоциации существуют, но более перспективным подходом в этой области должен быть учет не столько наличия тех или иных врожденных и приобретенных факторов тромбогенного риска/тромбофилии, сколько мониторирование результатов «глобальных» методов исследования гемостаза, описывающих состояние тромботической готовности [12]. С этой точки зрения заслуживает внимания тест генерации тромбина (ТГТ). Последний, как известно, характеризует динамику и интенсивность образования тромбина в плазме крови — ключевого фермента гемостаза и относится к интегральным показателям состояния системы свертывания крови [13, 14]. Недавно опубликованы интересные данные об особенностях ТГТ во время прохождения процедуры ЭКО [15]. В этой работе полученные в 31 случае сдвиги в показателях теста были интерпретированы как следствие эстрогеновой нагрузки и синдрома гиперстимуляции яичников и расценены как важные для прогнозирования тромбоза и мониторирования ЭКО. Наряду с этим повышенный интерес исследователей сегодня вызывает снижение фибринолитической активности крови (гипофибринолиз), часто определяющееся при привычном невынашивании беременности, АФС, тромбозе глубоких вен нижних конечностей, приеме оральных контрацептивов и др. [16, 17]. Нарушения в этой системе рассматриваются как новые факты в объяснении механизмов патогенеза тромбозов [18]. Анализ системы фибринолиза при прохождении процедуры ЭКО чаще всего выявляет снижение фибринолитических реакций в связи с уменьшением активности тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (TAFI), тканевого активатора плазминогена (t-PA) и повышением уровня его ингибитора — ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1), зависящих от деятельности эндотелия кровеносных сосудов [16, 17].

Одной из методик, направленных на снижение тромбогенности и повышение эффективности ЭКО, может быть применение гепаринов [19, 20]. Однако пока не сформированы показания для отбора женщин, нуждающихся в гепаринопрофилактике в цикле ЭКО. Коррекция гипофибринолиза при ЭКО также представляет определенные трудности, поскольку в литературе нет описаний успешного применения соответствующей лекарственной терапии. Тем не менее в течение примерно 50 лет известно, что некоторые стимулы (венозная окклюзия, физическая нагрузка,

десмопрессин) вызывают ускорение фибринолитических реакций, обусловленное быстрым увеличением активности t-PA в крови в связи с его усиленной секрецией эндотелием кровеносных сосудов. Наше внимание привлекли эффекты перемежающей пневматической компрессии (ППК), используемые для снижения частоты послеоперационного венозного тромбоза. О повышении фибринолитической активности крови и t-PA после механического воздействия на сосуды свидетельствуют результаты ряда авторов [21, 22]. В то же время данных о динамике активности PAI-1 при этом в литературе мы не нашли. Между тем именно соотношение активности этих важнейших участников фибринолитической системы определяет ее эффективность в целом. Как правило, ППК проводится на нижних конечностях, однако в некоторых работах получены хорошие результаты при компрессии рук [23], и хотя масса верхних конечностей меньше, чем нижних, показано, что вены предплечья содержат значительно больше t-PA, чем вены ног [24]. В нашей работе именно этот вариант ППК был использован с целью активации фибринолитических реакций при ЭКО и наличии соответствующих показаний.

Цель настоящей работы — определение роли нарушений в системе гемостаза и гипофибринолиза в возникновении неудач ЭКО, а также оценке результатов их терапевтической коррекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В рамках проспективного анализа были получены данные о 327 женщинах, обратившихся в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции при Краевой клинической больнице Барнаула в период с 2010 по 2012 г. для прохождения программы ЭКО в связи с бесплодием. Представленное исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Алтайского медицинского университета, и все участники дали свое информированное согласие.

Для индукции суперовуляции использовались стандартные протоколы (классический длинный протокол, протокол с антагонистами). Наступление беременности диагностировали путем определения гормона беременности р-хорионического гонадотропина человека (β-чХГ) на 14-е сутки после переноса эмбрионов.

Исследование состояло хронологически из двух этапов. На первом из них (наблюдательном) проведено обследование 163 женщин в цикле ЭКО, отобранных произвольно, методом случайной выборки (1-я группа). На втором этапе работы обследовались 164 женщины также произвольной выборки (2-я группа), из которых 98 пациенткам проводилась коррекция системы гемостаза и фибринолиза при определении соответствующих показаний — повышенной генерации тромбина и/или сниженной фибринолитической активности плазмы крови (управляемая группа, или группа с терапевтическим воздействием на гемостаз и фибринолиз) **(рис. 1)**.

Критерием отбора пациенток в исследование стало бесплодие любой формы, неподдающееся традиционной терапии. Критерии исключения: соматические заболевания, являющиеся противопоказаниями для вынашивания беременности и родов, врожденные пороки развития или приобретенные деформации полости матки, при которых невозможна имплантация эмбрионов или вынашивание беременности; опухоли яичников, доброкачественные опухоли матки, требующие оперативного лечения, злокачественные новообразования.

Все пациентки принадлежали к европеоидной расе, их возраст составил от 21 года до 42 лет **(табл. 1)**.

Имелось некоторое межгрупповое различие в клинической характеристике женщин, участвовавших в исследовании. Во 2-й группе было больше пациенток, страдающих хроническим эндометритом и имеющих более низкий овариальный резерв. Кроме того, среди причин бесплодия в данной группе преобладал мужской фактор.

Обследование проводилось 3 раза — за 1—2 дня до начала управляемой гиперстимуляции яичников и вступления в программу ЭКО (1-я точка наблюдений), за 2—3 дня до пункции фолликулов яичника (2-я точка наблюдений) и на 12—14-й день после переноса эмбрионов (3-я точка наблюдений), когда исход в части наступления беременности был определен с помощью оценки уровня β-чХГ.

Пробы венозной крови брали из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Пробы плазмы исследовались, как правило, в течение 2 ч после получения. Перед проведением иммуноферментного анализа и оценкой эндогенного тромбинового потенциала плазму хранили при —40 °C в течение от 1 сут до 1 мес.

Измерение эндогенного тромбинового потенциала (ЭТП) проводилось в тесте генерации тромбина (ТГТ). Показано, что ТГТ позволяет с высокой точностью измерять динамику как образования, так и инактивации тромбина [13, 14]. Для выполнения данного метода использовался планшетный флюориметр Fluoroskan Ascent ThermoFisher SCIENTIFIC

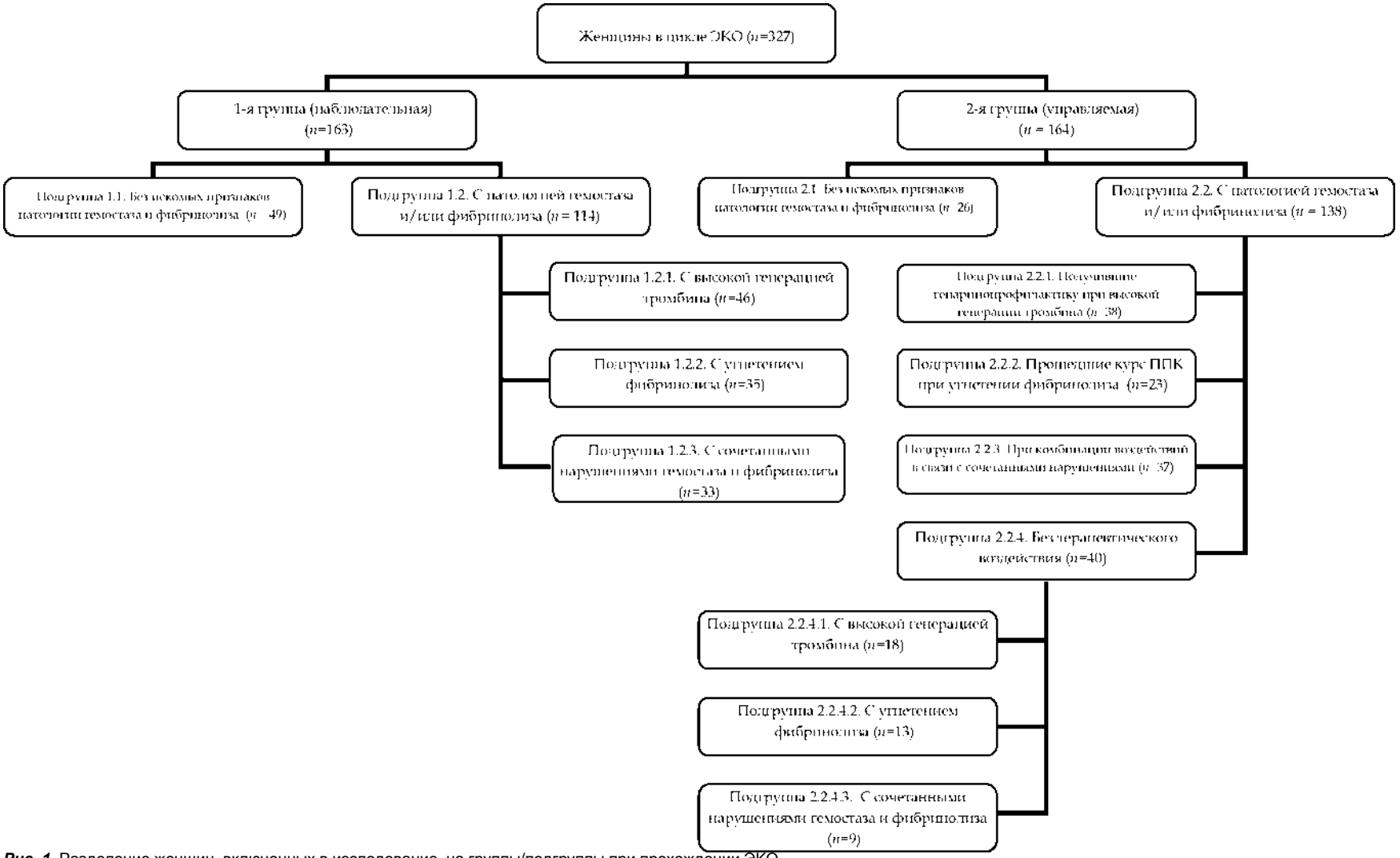


Рис. 1. Разделение женщин, включенных в исследование, на группы/подгруппы при прохождении ЭКО.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациенток, обследованных в цикле ЭКО, абс. (%)

Признак	Всего (*n*=327)	1-я группа (*n*=163)	2- группа (*n*=164)	*p*
Возраст, годы (*M*±*SD*)	33,7±4,1	33,2±3,6	34,4±3,9	>0,5
Индекс массы тела >25 кг/м^2	61 (18,7)	34 (20,9)	27 (16,5)	0,323
Генитальная патология:				
хронический эндометрит	108 (33,0)	42 (25,8)	66 (40,2)	0,006
эндометриоз	55 (16,8)	28 (17,2)	27 (16,5)	0,883
миома	45 (13,8)	25 (15,3)	20 (12,2)	0,426
неудачная попытка ЭКО в анамнезе	36 (11,0)	19 (11,7)	17 (10,4)	0,727
низкий овариальный резерв	55 (16,8)	19 (11,7)	36 (21,9)	0,017
Экстрагенитальная патология:				
гипофункция щитовидной железы	49 (15,0)	21 (12,9)	28 (17,1)	0,352
артериальная гипертензия	6 (1,8)	2 (1,2)	4 (2,4)	0,684
Причина бесплодия:				
трубный фактор	119 (36,4)	61 (37,4)	58 (35,4)	0,730
мужской фактор	138 (42,2)	59 (36,2)	79 (48,2)	0,033
эндокринный фактор	29 (8,9)	14 (8,6)	16 (9,8)	0,848
сочетание женского и мужского факторов	41 (12,5)	23 (14,1)	17 (10,7)	0,316

(Финляндия), с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Коагуляция исследуемой плазмы крови осуществлялась в присутствии 5 пмоль тканевого фактора и 4 мкмоль фосфолипидов, генерация тромбина регистрировалась посредством измерения сигнала флуорогенного субстрата Z-Gly-Gly-Arg-AMC. Определялись следующие показатели: ЭТП (эндогенный тромбиновый потенциал, нмоль/мин) — площадь под кривой генерации тромбина, учитывающей особенности инактивации этого фермента, и ПКТ (пиковая концентрация тромбина, нмоль/л) — максимальная концентрация тромбина в единицу времени.

Определение активности t-PA и PAI-1 осуществлялось методом иммуноферментного анализа с наборами реагентов t-PA Combi Actibind ELISA Kit и Actibind PAI-1 ELISA, «Technoclone» (Австрия), полученные данные сопоставляли между собой. С учетом того, что эти важные участники фибринолитических реакций являются антагонистами по отношению друг к другу и имеют общее происхождение (эндотелий кровеносных сосудов), рассчитывался индекс активирующей фибринолиз способности эндотелия (индекс АФСЭ) по формуле:

$$\text{Индекс АФСЭ , \%} = \frac{\text{Активность t-PA, ед/мл}}{\text{Активность PAI-1, ед/мл}} \times 100\ \%.$$

Определение времени лизиса сгустка (ВЛС). Использовалась модификация метода Kowarzyk and Buluk 1954), где в качестве активатора фибринолиза мы применяли каолин, активирующий контактную фазу свертывания и запускающий цепочку активации: фактор ХПа→калликреин→плазмин (набор реагентов Фибринолиз-тест фирмы «Технология-Стандарт», Барнаул). Диапазон нормальных колебаний ВЛС в этой модификации составляет 8—12 мин.

Определение концентрации D-димеров в плазме крови проводилось с помощью набора реагентов D-dimer Red-700, «Helena Bioscience» (UK) и коагулометра SYSMEX CA-1500, «Sysmex» (Япония).

Определение мутаций и полиморфизмов генов, предрасполагающих к тромбозу, выполнялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на оборудовании ООО «НПО ДНК- Технология» (Россия). Определялось носительство мутаций F5 Лейден (1691G>A), FII (20210G>A), полиморфизмов гена MTHFR (C677>T) и гена ингибитора активатора плазминогена PAI-1 (5G>4G).

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием программ Microsoft Offis Excel 2003 и Statistica 6.1. Результаты исследования оценивались методом вариационной статистики с применением критериев *t*-Стьюдента и Фишера. Статистически значимыми принимались различия при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В начале работы для нас было важным изучить сдвиги в системе гемостаза и фибринолиза, которые могли бы иметь значение для исходов ЭКО (в отношении наступления беременности) и установить тот их количественный уровень, который мог бы помочь в целях отбора группы женщин, нуждающихся в коррекции нарушений гемостатических и фибринолитических реакций. В результате было определено,

Таблица 2. **Количественный уровень и динамика показателей гемостаза и фибринолиза (M+SD) у женщин 1-й (наблюдательной) группы (n=63)**

Показатель	Неудача в цикле ЭКО (*n*=107)			Наступление беременности (*n*=56)		
	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений
ЭТП, нмоль/мин	1655±39,2**	2060,5±52,7**	1853,9±55,6**	1574,8±36,9	1723±54,2	1632,7±56,4
ПКТ, нмоль/л	328,6±24,8**	394,1±25,6**	378,4±25,5**	313,2±24,6	338,3±25,5	310,1±26,0
t-PA, активность, ед/мл	0,36±0,16	0,37±0,18	0,38±0,18	0,37±0,14	0,36±0,16	0,35±0,17
PAI-1, активность, ед/мл	4,22±2,98	4,08±2,76	4,10±2,16	3,67±2,68	3,41±2,87	3,25±2,31
Индекс АФСЭ, %	8,5±3,4	9,1±4,1	9,3±4,2	10,0±4,1	10,5±4,9	10,7±4,6
ВЛС, мин	13,5±3,7*	14,3±3,9*	14,9±3,8*	11,2±3,5	11,9±2,9	12,5±3,3
D-димеры, нг/мл	223,7±31,7**	266,4±27,8*	321,0±31,4**	198,5±25,4	251,6±26,1	298,4±28,4

Примечание. Здесь и в табл. 6-8: достоверность различий между группами с различными исходами в одни и те же сроки наблюдений в цикле ЭКО; * - p<0,05; ** - p<0,01.

что генерация тромбина в наблюдательной группе женщин в значительной степени увеличивается после начала контролируемой гиперстимуляции яичников в ответ на возрастание уровня эстрогенов в крови, что согласуется с недавно опубликованными данными [15]. При этом установлено, что степень повышения генерации тромбина различна при успешных и неуспешных исходах ЭКО **(табл. 2)**. В частности, величина таких показателей, как ЭТП и ПКТ, на 2-й точке исследования была выше в случае неудачи ЭКО (p<0,001) по сравнению с аналогичными данными у пациенток с наступившей беременностью.

Наиболее значимым неблагоприятным признаком был показатель ЭТП, границы диапазона которого при различных исходах ЭКО в середине цикла не пересекались даже при допущении интервала значений *M±3SD* **(рис. 2)**. Показатель ПКТ также изменялся, но его значения в сравниваемых группах не смешивались лишь в интервале *M±SD*. С учетом полученных результатов границей значений для положительного решения вопроса о проведении гепаринопрофилактики были выбраны следующие критерии: величина ЭТП более 1900 нмоль/мин и/или увеличение показателя ПКТ более 360 нмоль/л.

Уровень D-димеров, известного маркера образования фибрина и фибринолиза, показал менее яркие различия в подгруппах 1.1 и 1.2, хотя и был несколько большим, по средним данным при неуспешном исходе ЭКО **(см. табл. 2)**. Средние значения этого показателя у практически здоровых женщин фертильного возраста в условиях нашего центра составили 205,3 нг/мл (*M±2SD* 148,5—262,1 нг/мл). Соответственно полученные результаты уровня D-димеров на 2-й точке наблюдений находились в пределах допустимых значений или в незначительной мере превышали их. В связи с этим в дальнейшем мы не останавливались на низкоинформативных показателях данного теста.

Сложнее было определиться с пограничным уровнем значений, отражающих снижение активности фибринолитических реакций и позволяющих выявлять пациенток, нуждающихся в коррекции гипофибринолиза. Недавние важные работы в этом направлении свидетельствуют,

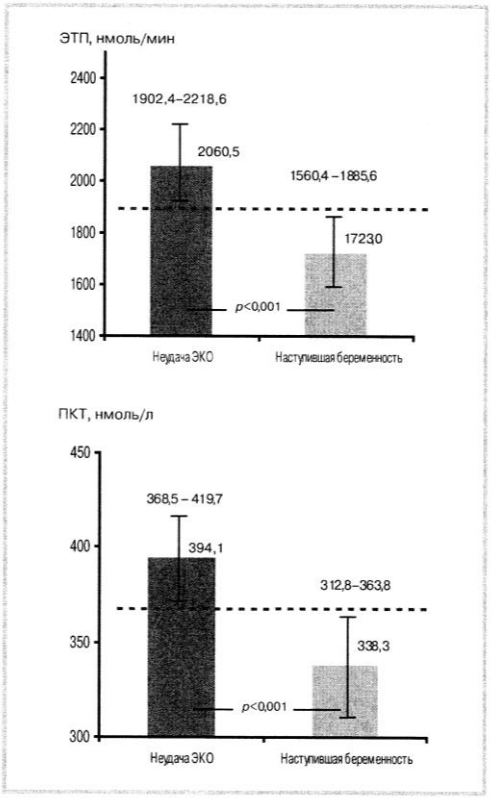


Рис. 2. Определение пограничных значений показателей ТГТ (ЭТП и ПКТ) для различных исходов ЭКО в 1-й (наблюдательной) группе (на 2-й точке наблюдений).

что гипофибринолиз встречается у части женщин, проходящих процедуру ЭКО, но это нарушение имеет место изначально, а не возникает в процессе управляемой гормональной стимуляции [15, 16]. Мы получили схожие данные, согласно которым угнетение фибринолиза действительно свойственно части женщин еще до вступления в цикл ЭКО и мало меняется на его протяжении. С другой стороны, анализ динамики активности t-PA и PAI-1, индекса их интегральной оценки — АФСЭ и ВЛС в наших исследованиях выявил более значительные сдвиги при неудаче ЭКО, хотя разница средних значений изученных показателей была недостоверной (p>0,05) **(см. табл. 2)**. Тем не менее мы учли два обстоятельства. Первое — средние значения индекса АФСЭ, определенные нами в группе из 10 практически здоровых добровольцев женского пола (в возрасте от 20 до 23 лет), оказались равными *(M±SD)* 11,0±3,3%, второе — при неблагоприятном результате ЭКО в 1-й (наблюдательной) группе пациенток перед вхождением в ЭКО (1-я точка) сниженный индекс АФСЭ (менее 11%) был выявлен в 93,5% случаев (у 43 из 46 женщин) против 4,1% случаев (у 2 из 49) успешного наступления беременности (p<0,000001) **(табл. 3)**.

Показания примененного варианта оценки ВЛС мы использовали в виде метода общего контроля за фибринолизом и не рассматривали в качестве потенциального критерия отбора женщин для прохождения терапевтического воздействия в связи со сложностями его межлабораторной стандартизации. Таким образом, при отборе женщин для прохождения ППК нами выбран расчетный показатель индекса АФСЭ, учитывающий соотношение активности t-PA и PAI-1 со значением менее 11%.

Возвращаясь к представленным выше данным, полученным при исследовании системы гемостаза и фибринолиза у пациенток 1-й (наблюдательной) группы (n=163), можно видеть значительное соответствие выявленных нарушений тем или иным результатам ЭКО **(см. табл. 3)**. Неблагоприятные сдвиги в данных системах крови отмечались у 114 (70%) из 163 женщин 1-й группы. В целом результативность цикла ЭКО была равной на этом этапе исследований (34,4%), однако определенные дефекты гемостаза и фибринолиза способствовали снижению числа эпизодов успешного наступления беременности с 95,9% (у 47 из 49 женщин подгруппы 1.1) до 7,9% (у 9 из 114 пациенток подгруппы 1.2), т.е. в 12,1 раза (p<0,000001).

Результаты терапевтического воздействия на систему гемостаза и фибринолиза, использованного для увеличения числа благоприятных исходов ЭКО

Коррекция системы гемостаза при избыточной генерации тромбина предусматривала в нашей работе проведение гепаринопрофилактики путем введения фраксипарина подкожно по 0,3 мл 2 раза в сутки на протяжении 12—14 дней. Решение о начале терапии основывалось на установлении факта сверхпорогового увеличения основных показателей генерации тромбина — ЭТП (более 1900 нмоль/мин) и/или ПКТ (более 360 нмоль/л), определенных на 2-й точке наблюдений.

Воздействие на сосудистую стенку с целью повышения активности фибринолиза проводилось с помощью ППК. В настоящем исследовании был использован прибор Пневмомассажер ПМ-01 (Россия) с наложением семикамерной компрессионной шины в область плеча в режиме волновой компрессии со следующими характеристиками: время поддержания давления в камерах манжеты от 5 до 90 с; давление сжатого воздуха, подаваемого в камеры, от 30 до 150 мм рт.ст., 45 циклов волновой компрессии с запоминанием на протяжении 30 мин. Компрессия выполнялась в виде курса из 8 сеансов (2 раза в неделю) с 30-минутным наложением манжеты аппарата на левую или правую руку. Основанием для начала такой терапии являлось снижение индекса АФСЭ ниже 11%, определенное у пациенток непосредственно перед началом программы ЭКО (1-я точка наблюдений).

По результатам проведенных исследований, общее число благоприятных исходов ЭКО во 2-й (управляемой) группе составило 41,5%, т.е. увеличилось всего на 7,1%

Таблица 3. **Результаты ЭКО у женщин 1-й (наблюдательной) группы в зависимости от наличия или отсутствия нарушений в системе гемостаза и фибринолиза**

Подгруппа обследованных	Количество женщин		Наступление беременности	
	абс. (n=163)	% от общего числа женщин	абс. (n=56)	% от числа забеременевших
1.1. Без искомых признаков патологии гемостаза и фибринолиза	49	30,1	47	83,9
1.2. С нарушениями гемостаза и фибринолиза	114	69,9	9	16,1
1.2.1. С увеличением ЭТП более 1900 нмоль/мин и/или повышением ПКТ более 360 нмоль/л (на 2-й точке наблюдений)	46	28,2	3	5,4
1.2.2. Со снижением индекса АФСЭ менее 11% и увеличением времени сгустка более 12 мин (на 1-й точке наблюдений)	35	21,5	4	7,1
1.2.3. С увеличением ЭТП более 1900 нмоль/мин и/или повышением ПКТ более 360 нмоль/л (на 2-й точке наблюдений) и снижением индекса АФСЭ менее 11% (на 1-й точке наблюдений)	33	20,2	2	3,6

Таблица 4. **Результаты ЭКО у женщин 2-й (управляемой) группы в зависимости от наличия или отсутствия нарушений в системе гемостаза и фибринолиза**

Подгруппа обследованных	Количество женщин		Наступление беременности	
	абс. (*n*= 164)	% от общего числа женщин	абс. (*n*= 68)	% от общего числа забеременевших
2.1. Без искомых признаков патологии гемостаза и фибринолиза	26	15,8	21	30,9
2.2. С нарушениями гемостаза и фибринолиза	138	84,2	47	69,1
В том числе:				
с увеличением ЭТП более 1900нмоль/мин и/или повышением ПКТ более 360нмоль/л (на 2-й точке наблюдений)	50	30,5	19	27,9
со снижением индекса АФСЭ менее 11 % (на 1-й точке наблюдений)	40	24,4	14	20,6
с увеличением ЭТП более 1900 нмоль/мин и/или повышением ПКТ более 360 нмоль/л (на 2-й точке наблюдений) и снижением индекса АФСЭ менее 11% (на 1-й точке наблюдений)	48	29,3	14	20,6
Получившие лечение по поводу патологии гемостаза	98	59,8	42	61,8
в том числе:				
2.2.1. После гепаринопрофилактики	38	23,2	15	22,1
2.2.2. После курса ППК	23	14,0	10	14,7
2.2.3. При сочетании гепаринопрофилактики с курсом ППК	37	22,6	17	25
2.2.4. Нуждавшиеся в лечении, но не получившие его	40	24,4	5	7,3

Таблица 5. **Влияние использованных методов коррекции гемостатических и фибринолитических реакций на эффективность ЭКО (с учетом данных 1-го и 2-го этапов исследований)**

Способ терапевтического воздействия	Нуждающиеся в лечении, но не прошедшие его (подгруппы 1.2 и 2.2.4; *n*=154)			Нуждающиеся в лечении, и пролечившиеся (подгруппы 2.2.1, 2.2.2 и 2.2.3; *n*=98)		
	абс.	из них забеременели		абс.	из них забеременели	
		абс.	%		абс.	%
Гепаринопрофилактика	64	4	6,2	38	15	39,5
Курс ППК	48	7	14,6	23	10	43,5
Сочетанное воздействие	42	3	7,1	37	17	45,9

в сравнении с аналогичным показателем в 1-й группе (34,4%; $p<0,21$) **(см. табл. 3, табл. 4)**.

Однако необходимо учесть, что 40 пациенток (подгруппа 2.2.4) не прошли предложенную нами терапию, хотя показания к ней имелись по приведенным выше критериям. Если суммировать исходы ЭКО у всех участвовавших в исследовании женщин с показаниями для проведения лечения **(табл. 5)**, но не получивших его по разным причинам (подгруппы 1.2 и 2.2.4; 154 случая), то положительными они оказались у 9,1%, в то время как у прошедших лечение пациенток (подгруппы 2.2.1, 2.2.2 и 2.2.3; 98 случаев) — в 42,9%, или в 4,71 раза чаще ($p<0,000001$).

Таким образом, обоснованное назначение низкомолекулярного гепарина при высокой генерации тромбина на 2-м этапе исследований способствовало увеличению числа случаев наступления беременности в 6,4 раза ($p<0,0001$), изолированное применение курса ППК — в 3,0 раза ($p<0,007$), а сочетание гепаринопрофилактики с ППК — в 6,5 раза ($p<0,0001$).

Эволюция показателей, отражающих дефекты гемостатических и фибринолитических реакций пациенток, нуждающихся в терапевтическом воздействии, освещена в **табл. 6—8**.

Очевидно, что предпринятое лечение оказывало благоприятное воздействие на интенсивность генерации тромбина и фибринолиз, причем индекс АФСЭ, отражающий фибринолизактивирующую способность сосудистой стенки, увеличился примерно в 2 раза.

Найдено, что при изолированном воздействии ППК у женщин с исходным, до вхождения в цикл ЭКО гипофибринолизом имелось резкое увеличение индекса АФСЭ. Примечательно отметить, что вазокомпрессия приводила не только к достоверно выраженному повышению активности t-PA, но и к снижению активности PAI-1 в конце цикла ЭКО. Следующая находка заключалась в том, что применение ППК приводило к усилению генерации тромбина, что наиболее четко прослеживалось по показателю ПКТ.

Таблица 6. **Динамика показателей гемостаза и фибринолиза *(M±SD)* у женщин 2-й группы в случае наличия показаний для гепаринопрофилактики (*n*=102)**

Показатель	Нуждающиеся в лечении, но не прошедшие его (подгруппы 1.2.1 и 2.2.4.1; *n*=64)			После гепаринопрофилактики (подгруппа 2.2.1; *n*=38)		
	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений	1-я точка наблюдени	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений
ЭТП, нмоль/мин	1461,2±81,6	1849,3±89,2	1782,4±93,5**	1489,5±85,5	1861,2±94,4	1524,6±88,9
ПКТ, нмоль/л	310,1±23,1	382,4±19,5	375,6±25,2**	321,2±22,3	386,3±23,5	335,2±20,2
t-PA, активность, ед/мл	0,30±0,16	0,33±0,15	0,31±0,15	0,33±0,12	0,41±0,16	0,42±0,17
PAI-1, активность, ед/мл	2,40±1,13	2,50±1,22	2,44±1,98	2,84±1,45	3,61±1,75	3,50±1,71
Индекс АФСЭ, %	12,5±3,1	13,2±4,2	12,7±3,6	11,62±3,2	11,35±4,2	12,0±3,9
ВЛС, мин	9,4±3,0	8,7±3,3	10,1±3,5	8,4±3,7	8,7±2,8	9,7±3,2

Таблица 7. **Динамика показателей гемостаза и фибринолиза *(M±SD)* у женщин 2-й группы в случае наличия показаний для проведения курса ППК (*n*=71), *t*-тест**

Показатель	Нуждающиеся в лечении, но не прошедшие его (подгруппы 1.2.2 и 2.2.4.2; *n*=48)			После курса ППК (подгруппа 2.2.2.2; *n*=23)		
	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений
ЭТП, нмоль/мин	1534,4±87,2**	1575,7±85,6	1589,6±96,4	1415,1±87,7	1562,3±86,1	1632,3±93,8
ПКТ, нмоль/л	314,2±30,3*	322,4±28,2	327,7±25,7**	294,5±24,4	322,1±31,1	353,3±25,9
t-PA, активность, ед/мл	0,36±0,14	0,39±0,15	0,37±0,14*	0,35±0,16	0,51±0,15	0,48±0,15
PAI-1, активность, ед/мл	3,98±1,67	4,11±2,32	4,05±2,54*	3,55±1,88	2,64±1,06	2,32±1,32
Индекс АФСЭ, %	9,0±3,2	9,5±3,6**	9,1±4,0**	9,9±3,2	19,3±3,4	20,6±4,5
ВЛС, мин	13,8±4,3	14,4±4,6*	14,8±3,2**	14,3±4,1	11,4±3,7	9,0±3,3

Таблица 8. **Динамика показателей гемостаза и фибринолиза *(M±SD)* у женщин 2-й группы при наличии показаний для сочетанной терапии (*n*=79)**

Показатель	Нуждающиеся в лечении, но не прошедшие его (подгруппы 1.2.3 и 2.2.4.3; *n*=42)			После гепаринопрофилактики и курса ППК (подгруппа 2.2.3; *n* =37)		
	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений	1-я точка наблюдений	2-я точка наблюдений	3-я точка наблюдений
ЭТП, нмоль/мин	1538,6±78,3	1770,4±85,6	1756,6±95,7**	1566,7±86,3	1764,4±95,7	1542,1±81,3
ПКТ, нмоль/л	322,3±32,4	379,3±29,1	374,5±31,6**	324,7±27,6	371,2±33,8	335,6±30,7
t-PA, активность, ед/мл	0,37±0,17	0,39±0,15	0,36±0,16	0,31±0,16	0,49±0,15	0,46±0,14
PAI-1, активность, ед/мл	3,64±2,05	4,12±1,77	3,45±1,98	3,02±1,69	2,29±1,14	2,09±0,91
Индекс АФСЭ, %	10,2±2,9	9,5±3,1**	10,4±3,3**	10,2±2,6	21,4±4,5	22,0±4,3
ВЛС, мин	15,4±3,9	13,2±4,2**	15,7±3,4**	13,8±2,3	10,0±3,8	9,1±3,9

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что избыточная генерация тромбина и угнетение фибринолитических реакций, наблюдаемые в 3 (у 77,1% обратившихся женщин) из 4 случаев, фатально снижают эффективность ЭКО, и эти сдвиги имеют сопоставимое значение в сравнении с традиционными для репродуктологии факторами риска. В этом наше исследование подтверждает ряд недавних сообщений, посвященных данной проблеме [15—17, 25]. Тем не менее мы продвинулись вперед, поскольку были установлены сверхпороговые значения ряда лабораторных параметров, позволяющих не только отслеживать повышенную склонность к свертыванию крови и/или гипофибринолизу [12], но и на их основе отбирать пациенток с высоким риском неудачи ЭКО для проведения терапевтической коррекции выявленных нарушений. В итоге, с учетом данных теста калиброванной тромбографии (по показателям ЭТП и ПКТ) женщинам назначался фраксипарин, что привело не только к эффективному снижению генерации тромбина, но и к значительному увеличению (в 6,4 раза) положительных исходов ЭКО.

Нами впервые предложен и опробован метод и режим ППК для коррекции гипофибринолиза у женщин в цикле ЭКО. Показано, что вазокомпрессия в этих случаях приводит к увеличению активности t-PA и снижению активности PAI-1, что отчетливо проявлялось резким увеличением расчетного индекса АФСЭ, ускорением ВЛС и увеличением числа положительных исходов данной репродуктивной технологии в 3 раза. Тем не менее была не вполне понятна причина динамического снижения активности PAI-1 в ходе проведения курса ППК, хотя это и явилось благоприятным результатом вазокомпрессии. Негативным последствием ППК оказался феномен повышения генерации тромбина, не описанный ранее. Проведенные расчеты показали, что ППК во всех случаях должна сочетаться с назначением гепаринов, что позволит получать оптимальные клинические результаты. В нашей работе комбинирование вазокомпрессии с профилактическими дозами низкомолекулярного

гепарина действительно способствовало увеличению числа наступивших беременностей в 6,5 раза (с 7,1 до 45,9%), причем в наиболее проблемной группе пациенток.

Среди всех обследованных только у 7 (2,2%) женщин выявлены редкие мутации — F5 Лейден (1691G>A) и F II (20210G>A), ассоциирующиеся с тромбозами, неудачами беременности и репродуктивных технологий. Поэтому мы не смогли определить их роль для исходов ЭКО. Более часто встречающиеся полиморфизмы гена MTHFR (C677>T) и тромботической готовности.

гена PAI-1 (5G>4G) по сравнению с результатами исследования [26] не показали своей значимости.

ВЫВОД

Выполненные исследования свидетельствуют, что существуют возможности прогресса в улучшении результатов ЭКО на основе выявления и коррекции патологии гемостаза и фибринолиза. Приведенные данные могут послужить основой для выработки новых рекомендаций и стандартов, позволяющих улучшить эффективность современных репродуктивных технологий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction. Report of a meeting on «Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction» held at WHO Headquarters in Geneva, Switzerland, 17—21 September 2001. WHO (Geneva) 2002; 396.
2. ***Nyboe Andersen A., Goossens V., Bhattacharya S.*** and The European IVF-monitoring (EIM) Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE: ESHRE. The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Hum Reprod 2009; 24: 6: 1267—1287.
3. ***Christiansen O.B., Nielsen H.S., Kolte A.M.*** Future directions of failed implantation and recurrent miscarriage research. Reprod Biomedicine Online 2006; 13: 71—83.
4. ***Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г.*** Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы). Пробл репрод 2010; 1: 68—74.
5. ***Вартанян Э.В., Айзикович И.В., Антонов А.Р.*** Причины неудач ЭКО (обзор литературы). Пробл репрод 2010; 3: 57—61.
6. ***Охтырская Т.А., Яворовская К.А., Шуршалина А.В. и др.*** Им- плантационные потери в программах ЭКО: роль наследственной и приобретенной тромбофилии (обзор литературы). Пробл репрод 2010; 2: 53—57.
7. ***Gleicher N, Vidali A., Karande V*** The immunological «Wars of the Roses»: disagreemants amongst reproductive immunologists. Hum Reprod 2002; 17: 539—542.
8. American Society for Reproductive Immunology Antiphospholipid Antibody Committee: A rational basis for antiphospholipid antibody testing and selective immunotherapy in assisted reproduction: a rebuttal to the American Society for Reproductive Medicine Practice Committee Opinion. Fertil Steril 2000; 74: 631—634.
9. American Society of Reproductive Medcine. Birmingham. Alabama. Antiphospholipid Antibodies Do Not Affect IVF Success. Fertil Steril 2008; 90: S172—S173.
10. ***Zaynulina M., Mirashvili M.*** The prevalence of congenital and acquired thrombophilia and hyperhomocysteinemia in women with repeated in vitro fertilization failure. J Thrombos Res 2012; 130: 1: S160.
11. ***Khizroeva D., Bitsadze V.*** Clinical value of thrombophilia diagnostics in women with repeated IVF failure. J Thrombos Res 2012; 130: 1: S160.
12. ***Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. и др.*** Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета 2011;138.
13. ***Hemker H.C., Al DieriR., De SmaltF. et al.*** Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. Thromb Haemost 2006; 96: 5: 553—561.
14. ***Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R. et al.*** Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. Pathophys Haemost Thromb 2003; 33: 4—15.
15. ***Westerlund E., Henriksson P., Wallen H. et al.*** Detection of a procoagulable state during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization with global assays of haemostasis. Thromb Res 2012; 46: 4: 417—425.
16. ***Martinez-Zamora M.A., Creus M., Tassies D. et al.*** Reduced plasma fibrinolytic potential in patients with recurrent implantation failure after IVF and embryo transfer. Hum Reprod 2011; 26: 3: 510— 516.
17. ***Meltzer M.E., Lisman T., De Groot P.G. et al.*** Venous thrombosis risk associated with plasma hypofibrinolysis is explained by elevated plasma levels of TAFI and PAI-1. Blood 2010; 116: 113—121.
18. ***Zorio E., Gilabert-Estelles J., Espana F. et al.*** Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms. Curr Med Chem 2008; 15: 923— 929.
19. ***Nelson S.M., Greer I.A.*** The potential role of heparin in assisted conception. Hum Reprod Update 2008; 14: 623—645.
20. ***Urman B., Ata B., Yakin K. et al.*** Luteal phase empirical low molecular weight heparin administration in patients with failed ICSI embryo transfer cycles: a randomized open-labeled pilot trial. Hum Reprod 2009; 24: 7: 1640—1647.
21. ***Christen Y., Wutschert R., Weimer D. et al.*** Effects of intermittent pneumatic compression on venous haemodynamics and fibrinolytie activity. Blood Coagul Fibrinolys 1997; 8: 185—190.
22. ***Salzman E.W., McManama G.P., Shapiro A.H. et al.*** Effect of optimization of hemodynamics on fibrinolytie activity and antithrombotic efficacy of external pneumatic calf compression. Ann Surg 1987; 206: 636—641.
23. ***Knight M.T.N., Dawson R.*** Effect of intermittent compression of the arms on deep venous thrombosis in the legs. Lancet 1976; 2: 1265—1267.
24. ***Pandolfi M., Robertson B., Isacson S. et al.*** Fibrinolytic activity of human veins in arms and legs. Thromb Diath Haemorrh 1968; 20: 247—255.
25. ***Rova K., Passmark H., Lindqvist P. G.*** Venous thromboembolism in relation to in vitro fertilization: an approach to determining the incidence and increase in risk in successful cycles. Fertil Steril 2012; 97: 1: 95—100.
26. ***Coulam C.B., Jeyendran D.*** Trombophilic gene polymorphisms are risk factors for unexplained infertility. Fertil Steril 2009; 91: 4: 1516—1517.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013 УДК
618.177-06:616.151.51-089.888.11-06

ФАКТОРЫ РИСКА НЕУДАЧ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ГЕМОСТАЗА И ИХ КОРРЕКЦИЯ

А.П. Момот[1,3], И.В. Лыдина[1], В.Ю. Зоренко[2], О.Г. Борисова[4], Л.П. Цывкина[1,3], И.А.Тараненко[1,3]

[1]ГБОУ Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул; [2]ФГБУГематологический научный центр Минздрава России, Москва; [3]Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Барнаул; [4]КГБУ Краевая клиническая больница, Барнаул

Для решения проблемы бесплодия широко используется экстракорпоральное оплодотворние (ЭКО), неудачи которого связываются с рядом причин, в том числе с нарушениями в системе гемостаза. Проведен анализ факторов риска неудач ЭКО до и после терапевтической коррекции избыточной генерации тромбина и гипофибринолиза.

Ключевые слова: *экстракорпоральное оплодотворение, беременность, факторы риска, генерация тромбина, гипофибринолиз, гепаринопрофилактика, вазокомпрессия*

RISK FACTORS FOR IN VITRO FERTILIZATION FAILURE IN PATIENTS WITH HEMOSTATIC DISORDERS AND THERE CORRECTION

*A.P. Momot[1,3],I.V. Lydina[1],I.V. Molchanova[4], V.Yu. Zorenko[2],*O.G. *Borisova[4], LP. Tsyvkina[1,3],I.A. Taranenko[1,3]*

1 Altai State Medical University, Barnaul, Russia; 2Hematology Research Center, Moscow, Russia; 3 Altai Affiliated Branch of Hematology Research Center, Barnaul, Russia; Territorial Clinical Hospital, Barnaul, Russia

Summary .*In vitro* fertilization (IVF) is widely used to solve the problems of infertility. Failures of IVF can be caused by several factors, including disorders in the hemostasis system. Risk factors of IVF failure have been analyzed before and after correction of excessive thrombin generation and hypofibrinolysis.

Key words: *in vitro fertilization, pregnancy, risk factors; thrombin generation, hypofibrinolysis; heparin prophylaxis, calf-thigh compression*

Бесплодие и упорное невынашивание беременности находятся в числе наиболее серьезных проблем современной медицины, для решения которых требуется междисциплинарный подход. При нарушениях репродуктивной функции активно применяются вспомогательные репродуктивные технологии, включающие в себя экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) [1].

Несмотря на большой интерес к этой финансово затратной медицинской технологии, результативность ЭКО в мире и в России сравнительно низка и составляет около 30%, причем за последние годы этот показатель заметно не изменился [1,2].

По современным представлениям [3—5], неудачи ЭКО связаны с рядом причин, к числу которых, помимо мужского фактора (олигозооспермия) и гинекологических факторов риска (синдром гиперстимуляции яичников, низкий -

овариальный резерв, нарушение имплантационных свойств эндометрия, недостаточное количество перенесенных эмбрионов), относят повышенную склонность к свертыванию крови. Последняя обусловлена рядом причин — тромбогенностью самой медицинской технологии в связи с эстроген-гестагеновой нагрузкой и частым наличием у женщин, нуждающихся в ЭКО, факторов тромбогенного риска и склонности к внутрисосудистому свертыванию крови или тромбофилии. Для снижения тромбогенности крови в цикле ЭКО описано применение низкомолекулярных гепаринов (НМГ) [6, 7]. Однако рекомендованных и обоснованных критериев для уверенного отбора нуждающихся в гепаринопрофилактике женщин при выполнении этой репродуктивной технологии не описано.

В ранее опубликованных исследованиях [8—10] нами определены возможности улучшения результатов ЭКО путем выявления и коррекции патологии гемостаза и фибринолиза. В частности, установлена связь повышенной генерации тромбина и/или низкой фибринолитической активности с неудачами этой репродуктивной технологии.

Полученные данные позволили отобрать информативные маркеры для формирования группы высокого риска проблемных исходов ЭКО — тест генерации тромбина и показатели фибринолитической активности, соотношение активностей тканевого активатора плазминогена (t-PA) и ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI 1). Данные нарушения носили массовый характер, они были выявлены у 252 (77,1%) из 327 пациенток и приводили к снижению числа наступивших беременностей по исходам данной репродуктивной технологии в 12,1 раза. Учитывая, что t-PA и PAI 1 являются антагонистами по отношению друг к другу и имеют общее происхождение (эндотелий кровеносных сосудов), рассчитывали индекс активирующей фибринолиз способности эндотелия (индекс АФСЭ, в %) по формуле:

$$\text{индекс АФСЭ} = \frac{\text{активность t-PA, ЕД/мл}}{\text{активность PA1-1, ЕД/мл}} \cdot 100\%$$

Решение о начале терапии основывалось на установлении факта сверхпорогового увеличения основных показателей генерации тромбина — эндогенного тромбинового потенциала — ЭТП (свыше 1900 нмоль/мин) и/или пиковой концентрации тромбина — ПКТ (более 360 нмоль/л), определенных на 2-й точке наблюдений (см. раздел "Материалы и методы"). Коррекция системы гемостаза при избыточной генерации тромбина предусматривала проведение гепаринопрофилактики путем введения надропарина кальция подкожно по 0,3 мл 2 раза в сутки на протяжении 12—14 сут.

Воздействие на сосудистую стенку с целью повышения активности фибринолиза проводили с помощью перемежающей пневматической компрессии (ППК). В исследовании использован пневмомассажер ПМ-01 (Россия) с наложением семикамерной компрессионной шины в область плеча в режиме волновой компрессии. Последнюю выполняли в виде курса из 8 сеансов (2 раза в неделю) с 30-минутным наложением манжеты аппарата на левую или правую руку. Основанием для начала такой терапии являлось снижение индекса АФСЭ ниже 11%, определенное у пациенток непосредственно перед началом программы ЭКО (1-я точка наблюдений).

Показания примененного при этом варианта оценки времени лизиса сгустка (BJIC) эуглобулиновой фракции плазмы, активированного каолином, мы использовали в виде метода общего контроля за фибринолизом и не рассматривали в качестве потенциального критерия отбора женщин для прохождения терапевтического воздействия в связи со сложностями его межлабораторной стандартизации и влиянием на его значения концентрации фибриногена.

Предпринятые меры терапевтической коррекции у 98 отобранных в работе пациенток позволили повысить частоту наступления беременности (в среднем в 4,7 раза) [9].

Цель работы заключалась в определении спектра значимых факторов риска неудачи ЭКО до и после терапевтической коррекции нарушений гемостаза и фибринолиза.

Материалы и методы

В рамках проспективного анализа были получены данные о 327 женщинах (средний возраст 33,8 ± 0,4 года), обратившихся в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции при КГБУ Краевая клиническая больница (Барнаул) в период с 2011 по 2012 г. для прохождения программы ЭКО в связи с бесплодием. Представленное исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Алтайского медицинского университета, и все участники дали свое информированное согласие.

Для индукции суперовуляции использовали стандартные протоколы (классический длинный протокол, протокол с антагонистами). Факт наступления беременности подтверждали путем определения гормона беременности β-хорионического гонадотропина человека (β-ХГЧ) на 14-е сутки после переноса эмбрионов.

Обследование проводили трижды — за 1—2 дня до начала управляемой гиперстимуляции яичников и вступления в программу ЭКО (1-я точка наблюдений), за 2—3 дня до пункции фолликулов яичника (2-я точка наблюдений) и на 12—14-й день после переноса эмбрионов (3-я точка наблюдений), когда исход в части наступления беременности был определен с помощью оценки уровня β-ХГЧ.

Исследование состояло хронологически из двух этапов. На первом из них (наблюдательном) проведено обследование 163 женщин в цикле ЭКО, отобранных произвольно, методом случайной выборки. На втором этапе работы обследовали 164 женщины, также путем произвольной выборки, из которых 98 пациенткам проводили коррекцию системы гемостаза и фибринолиза при определении соответствующих показаний — повышенной генерации тромбина и/или сниженной фибринолитической активности плазмы крови (управляемая группа или группа с терапевтическим воздействием на гемостаз и фибринолиз). В число методов исследования вошло измерение ЭТП по тесту генерации тромбина (ТГТ), для чего использовали

Факторы, способствующие неудачам наступления беременности в цикле ЭКО в 1-й наблюдаемой группе (*n* = 163) Таблица 1

Признак	ЭКО				ОШ (95% ДИ)	*P*
	неудача (*n* = 107)		удача (*n* = 56)			
	абс.	%	абс.	%		
Гиперстимуляция (ранняя)	22	20,5	0	0	29,7 (1,76—500)	<0,00001
ЭТП свыше 1900 нмоль/мин (на 2-й точке наблюдений)	73	68,2	4	7,1	27,9 (9,33—83,4)	<0,00001
ПКТ более 360 имоль/л (на 2-й точке наблюдений)	74	69,1	5	8,9	22,8 (8,36—62,5)	<0,00001
Олигозооспермия (средней и тяжелой степени)	45	42	2	3,5	19,5 (4,53—84,6)	<0,00001
ВЛС более 12 мин (на 1-й точке наблюдений)	69	64,5	5	8,9	18,5 (6,81—50,3)	< 0,000001
Индекс АФСЭ менее 11% (на l-й точке наблюдений)	62	57,9	6	10,7	1 1 , 5 (4,53—29,1)	0,00005
Некачественный эмбрион	23	21,4	3	5,3	4,83 (1,38—16,9)	0,011
Недостаточное количество перенесенных эмбрионов в цикле ЭКО (1—2)	38	35,5	6	10,7	4,58 (1,8—11,6)	0,0007
Мутация гена *FII* (G/A, A/A)	3	2,8	0	0	3,78 (0,19—74,5)	0,319
Трудный перенос эмбрионов	32	29,9	6	10,7	3,55 (1,38—9,12)	0,006
Гипоплазия эндометрия	11	10,3	3	5,3	2,02 (0,54—7,57)	0,383
Неудачная попытка ЭКО в анамнезе	20	18,7	6	10,7	1,91 (0,72—5,08)	0,260
Гомоцистеин в крови более 15 мкмоль/л (на 1-й точке наблюдений)	22	20,5	7	12,5	1,81 (0,72—4,54)	0,280
Возраст 36—40 лет	19	17,7	6	10,7	1,79 (0,67—4,80)	0,262
Высокодозный протокол	35	32,7	12	21,4	1,78 (0,83—3,79)	0,148
Сочетание полиморфизмов *MTHFR* (G/A, A/A) и *PA1-I* (G/A, A/A)	26	24,3	9	16,0	1,67 (0,72—3,87)	0,315
Низкий овариальный резерв	19	17,7	7	12,5	1,51 (0,59—3,84)	0,500
Полиморфизм гена *PAI-I* (G/A, A/A)	42	39,2	20	35,7	1,16 (0,59—2,27)	0,735
Цитомегаловирусная инфекция	11	10,3	5	8,9	1,16 (0,38—3,54)	> 1,00
Гиперфибриногенемия более 5 г/л (на 2-й точке наблюдений)	14	13	7	12,5	1,05 (0,39—2,78)	> 1,00
Уровень D-димеров более 500 нг/мл (на 2-й точке наблюдений)	19	17,7	10	17,8	0,99 (0,42—2,31)	> 1,00
Герпес 1-го и 2-го типа	35	32,7	21	37,5	0,81 (0,41—1,59)	> 1,00
Гипотиреоз	6	5,6	4	7,1	0,77 (0,20—2,85)	0,737
Лейкоцитоз более 11 • 10^9/л (на 1-й точке наблюдений)	23	21,5	15	26,8	0,74 (0,35—1,58)	> 1,00
Группа крови не 0(I)	85	79,4	47	83,9	0,74 (0,31—1,73)	0,535
Полиморфизм гена *MTHFR* (G/A, A/A)	30	28	23	41	0,55 (0,28—1,10)	0,113
Мутация гена *FV Leiden* (G/A)	1	0,9	1	1,7	0,51 (0,03—8,45)	> 1,00

Примечание. ДИ — доверительный интервал.

планшетный флюориметр Fluoroskan Ascent ("ThermoFisher Scientific", Финляндия) с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Коагуляцию исследуемой плазмы крови осуществляли в присутствии 5 пмоль тканевого фактора и 4 мкмоль фосфолипидов, генерацию тромбина регистрировали посредством измерения сигнала флюорогенного субстрата Z-Gly-Gly-Arg-AMC. Учитывали следующие показатели: ЭТП, расчет площади под кривой генерации тромбина (в нмоль/мин), учитывающей особенности инактивации этого фермента, и ПКТ, максимальная концентрация тромбина (в нмоль/л) в единицу времени [11—13].

Кроме того, определяли активность t-PA и PAI-1, уровень D-димеров и ВЛС. Оценивали также носительство мутаций и полиморфизмов генов, предрасполагающих к тромбозу, — мутаций F5 Leiden (1691G>A), FII (20210G>A), полиморфизмов гена *MTHFR* (C677>T) и гена ингибитора активатора плазминогена *PAI-1* (5G>4G), особенности исследования которых приведены в предыдущей публикации по данной проблеме [9].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ Microsoft Offis Exel 2003 и Statistica 6.1.

Результаты и обсуждение

При оценке причин неудачи наступления беременности в цикле ЭКО у 163 пациенток 1-й (наблюдаемой) группы по итогам анализа отношения шансов (ОШ) наиболее важные неблагоприятные факторы или признаки, оцененные как статистически значимые, выявлены у 9 (33,3%) из 27 пациенток **(табл. 1)**. В их число вошли показатели, отражающие повышенную генерацию тромбина и угнетение фибринолитических реакций, заняв 2-е и 3-е место соответственно. 5-е и 6-е место с высокой статистической значимостью занимают признаки гипофибринолиза. Следо-

Факторы, способствующие неудачам наступления беременности в цикле ЭКО во 2-й управляемой группе (*n* = 124) Таблица 2

Признак	ЭКО				ОШ (95% ДИ)	*P*
	неудача (*n* = 61)		удача (*n* = 63)			
	абс.	%	абс.	%		
Гиперстимуляция (ранняя)	12	19,6	0	0	32 (1,85—555)	< 0,0001
Олигозооспермия (средней и тяжелой степени)	26	42,6	4	6,3	10,9 (3,53—34,0)	0,0002
Недостаточное количество перенесенных эмбрионов в цикле ЭКО (1—2)	23	37,7	8	12,7	4,16 (1,68—10,28)	0,003
Гомоцистеин в крови более 15 мкмоль/л (на 1-й точке наблюдений)	14	22,9	5	7,9	3,45 (1,16—10,2)	0,043
Трудный перенос эмбрионов	18	29,5	7	1U	3,34 (1,28—8,74)	0,013
Мутация гена *FII* (G/A, A/A)	1	1,6	0	0	3,14 (0,12—78,8)	0,491
Некачественный эмбрион	17	27,8	8	12,7	2,65 (1,04—6,72)	0,044
ПКТ более 360 нмоль/л (на 2-й точке наблюдений)	43	70,4	32	50,8	2,31 (1,10—4,84)	0,028
ЭТП свыше 1900 нмоль/мин (на 2-й точке наблюдений)	41	67,2	31	49,2	2,11 (1,02—4,38)	0,047
Неудачная попытка ЭКО в анамнезе	11	18	6	9,5	2,09 (0,72—6,06)	0,198
Уровень D-димеров более 500 нг/мл (на 2-й точке наблюдений)	13	21,3	8	12,7	1,86 (0,71—4,87)	0,476
Возраст 36—40 лет	8	13,1	5	7,9	1,75 (0,53—5,68)	0,392
Полиморфизм гена *PAI-1* (G/A, A/A)	26	42,6	20	31,7	1,59 (0,76—3,32)	0,265
Цитомегаловирусиая инфекция	3	4,9	2	3,1	1,57 (0,25—9,78)	1,677
Индекс АФСЭ менее 11% (на 1-й точке наблюдений)	33	54	27	42,8	1,57 (0,77—3,19)	0,280
Сочетание полиморфизмов генов *MTHFR* (G/A, A/A) и *PAI-1* (G/A, A/A)	17	27,8	13	20,6	1,48 (0,64—3,40)	0,706
Гиперфибриногенемия более 5 г/л (на 2-й точке наблюдений)	8	13,1	6	9,8	1,43 (0,46—4,40)	0,580
Высокодозный протокол	6	9,8	5	7,9	1,26 (0,36—4,38)	0,760
Группа крови не 0(I)	48	78,6	47	74,6	1,24 (0,54—2,89)	0,673
Низкий овариальный резерв	11	18	10	15,8	1,16 (0,45—2,98)	0,813
ВЛС более 12 мин (на 1-й точке наблюдений)	35	57,4	34	53,9	1,14 (0,56—2,33)	0,720
Лейкоцитоз более 11 • 109/л (на 1-й точке наблюдений)	13	21,3	12	19,0	1,15 (0,47—2,77)	0,824
Гипоплазия эндометрия	4	6,5	4	6,3	1,03 (0,24—4,33)	> 1,00
Гипотиреоз	4	6,5	4	6,3	1,03 (0,24—4,33)	> 1,00
Герпес 1-го и 2-го типа	7	11,4	9	14,3	0,77 (0,27—2,23)	0,790
Полиморфизм гена *MTHFR* (G/A, A/A)	12	19,6	25	39,6	0,37 (0,16—0,83)	0,018

вательно, помимо хорошо известных в гинекологии факторов риска (ранняя гиперстимуляция яичников, мужской фактор, низкое качество эмбриона, гипоплазия эндометрия, неудачная попытка ЭКО в анамнезе и др.), повышенная способность к тромбообразованию в ответ на нагрузку эстрогенами, а также угнетение фибринолитических реакций оказываются в числе ведущих причин неудачи ЭКО. Частота встречаемости такого известного и широко используемого в клинической практике маркера тромбинемии, как повышение уровня D-димеров в плазме крови, не различалась у женщин с наступившей и не наступившей беременностью на всех этапах наблюдений (ОШ 0,99; 0,95% ДИ 0,42—2,31 — 21-е место).

Носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов определено у большинства наших пациенток 1-й группы (71,2%), но редкие мутации — FV Leiden (G/A) и FII (G/A, A/A) были найдены лишь у 4 (2,4%). Вместе с тем сочетание полиморфизмов генов *MTGFR* и *PAI-1* выявлено в несколько большем проценте случаев с неуспешным ЭКО (24,3% против 16%), что, однако, не было статистически значимым. В наших наблюдениях не проявили своей протромбогенной/неблагоприятной роли группа крови не 0(I), носительство ряда вариантов вирусной инфекции, а также проявления воспалительной реакции (гиперфибриногенемия, лейкоцитоз).

Картина с факторами риска неудачи беременности при ЭКО существенно изменилась после терапевтической коррекции гемостаза и фибринолиза. На большинство основных позиций вышли традиционные в репродуктологии причины — ранняя гиперстимуляция, олигозооспермия и ряд других **(табл. 2)**. Из гемостазиологических причин на 4-м месте оказалась гипергомоцистеинемия (ОШ 3,45; 0,95% ДИ 1,16—10,2), что явилось, очевидно, следствием недостаточного внимания к проблеме нарушений обмена метионина на этапе подготовки к протоколу ЭКО. Уровень значимости проявлений высокой генерации тромбина сместился со 2-го и 3-го места на 8-е и 9-е соответственно, а индекса АФСЭ— с 6-го места на 15-е, что явилось еще одним доказательством эффективности примененных нами методов терапевтического воздействия.

Из расчетов показателей (см. **табл. 2**) исключены 40 пациенток с нарушениями гемостаза и фибринолиза, не прошедших лечения по различным причинам.

У всех обследованных в настоящей работе женщин ряд известных в репродуктологии факторов риска неудачи

ЭКО оказались малозначимыми независимо от проводимой коррекции нарушений гемостаза и гипофибринолиза. В их число вошли низкий овариальный резерв (20-е место), проявления воспалительной реакции (лейкоцитоз, гиперфибриногенемия), вирусоносительство (цитомегаловирусная инфекция — 14-е место, герпес — 25-е место), гипофункция щитовидной железы (24-е место) и ряд других.

Среди всех 327 обследованных было определено, что только у 7 (2,2%) женщин имеются редкие мутации F5 Leiden (1691G>A) и FII (20210G>A), ассоциирующиеся с тромбозами, неудачами беременности. Поэтому мы не смогли определить их роль для исходов ЭКО, хотя низкая встречаемость данных мутаций у наших пациенток имеет самостоятельное значение. Более часто встречающиеся в группе обследованных нами женщин полиморфизмы гена *MTHFR* (C677>T) и гена *PAI-1* (5G>4G) по сравнению с результатами исследования C. Coulam и D. Jeyendran [14] также не показали своей значимости.

Таким образом, в работе выявлены наиболее значимые факторы риска неудач ЭКО, в число которых вошли повышенная склонность к генерации тромбина и снижение фибринолитической активности крови, выявленные у 77,1% женщин, включенных в протокол ЭКО. Модификация этих факторов риска при использовании гепаринопрофилактики и/или аппаратной вазокомпрессии снизила их значимость для неудач ЭКО после терапевтической коррекции. На этом фоне приобрели важное значение традиционные и известные репродуктологам факторы, включая гипергомоцистеинемию. Учет их модифицированного спектра позволяет наметить дальнейшие пути повышения эффективности современных репродуктивных технологий за счет дополнительной коррекции управляемых факторов риска.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Радзинский В.Е., Алеев И А.* Бесплодие и экстракорпоральное оплодотворение в свете контраверсий (по данным VII всемирного конгресса "Противоречия в акушерстве, гинекологии и фертильности"). Акушерство и гинекология. 2006; 1: 60—2.
2. *Вартанян Э.В., Айзикович И.В., Антонов А.Р.* Причины неудач ЭКО (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2010; 3:57—61.
3. *Охтырская Т.А., Яворовская К.А., Шуршалина А.В., Назаренко Г.А.* Имплантационные потери в программах ЭКО: роль наследственной и приобретенной тромбофилии (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2010; 2: 53—7.
4. *Martinez-Zamora M.A., Creus M., Tassies D.* Reduced plasma fibrinolytic potential in patients with recurrent implantation failure after IVF and embryo transfer. Hum. Reprod. 2011; 26(3): 510—6.
5. *Westerlund E., Henriksson P., Wallen H., Hovatta O., Rodriguez-Wallberg K., Antovic A.* Detection of a procoagulable state during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization with global assays of haemostasis. Thromb. Res. 2012; 46(4): 417—25.
6. *Nelson S.M., Greer LA.* The potential role of heparin in assisted conception. Hum. Reprod Update 2008; 14(6): 623—45.
7. *Urman B., Ata B., Yakin K., Alatas* C., *Aksoy S., Mercan R. et al.* Luteal phase empirical low molecular weight heparin administration in patients with failed ICSI embryo transfer cycles: a randomized open-labeled pilot trial. Hum. Reprod. 2009; 24(7): 1640—7.
8. *Лыдина И.В., Момот А.П., Борисова О.Г., Елыкомов В.А., Цывкина Л.П.* Бемипарин натрия в повышении эффективности программы экстракорпорального оплодотворения. Медицина и образование в Сибири. Электронный научный журнал. 2012; 6. http://www.ngmu.ru.
9. *Момот А.П., Лыдина И. В., Борисова О. Г, Елыкомов В А., Цывкина Л.П.* Экстракорпоральное оплодотворение и управление гемостазом. Проблемы репродукции. 2012; 18(6): 47—55.
10. *Momot A., Lydina I., Tsyvkina L., Borisova O., Serduk G.* The means of progress in improving the results of in vitro fertilization based on the identification and correction of the pathology of hemostasis. In: Atef M.M. Darwish, ed. Enhancing success of assisted reproduction. Croatia: InTech — Open Access Publisher; 2012: 77—116. http://www.intechopen.com/articles/show/title/ the-means-of-progress-in-improving-the-results-of-in-vitro-fer- tilization-based-on-the-identification
11. *Наместников Ю.А.* Тест генерации тромбина — интегральный показатель состояния системы свертывания крови. Гематология и трансфузиология. 2010; 2: 32—9.
12. *Hemker H. C., Al Dieri R., De Smedt F., Begum S.* Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. Thromb. Haemost. 2006; 96(5): 553—61.
13. *Hemker H.C., Giesen P.L., Ramjee M., WagenvoordR., BeguinS.* The thrombogramm: Monitoring thrombin generation in platelet- rich plasma. Thromb. Haemost. 2000; 83(4): 589—91.
14. *Coulam C.B., Jeyendran D.* Trombophilic gene polymorphisms are risk factors for unexplained infertility. Fertil. Steril. 2009; 91(4): 1516—7.

Поступила 12.02.13

УДК 618.177-089.888.11:615.273.52

Оригинальные исследования Тромбоз, гемостаз и реология, №4 (52), декабрь 2012 г., с. 41-44

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БЕМИПАРИНА НАТРИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

И. В. Лыдина

ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоиразвития Российской Федерации, Барнаул, Россия

Для лечения проблемы бесплодия широкое распространение получил метод экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), неудачи которого связаны с рядом причин, в том числе с высокой тромбогенностью крови. На основе отобранных значений показателей теста генерации тромбина была сформирована группа женщин для гепаринопрофилактики в цикле ЭКО. Применение низкомолекулярного гепарина второго поколения (бемипарина натрия) при плановой гиперстимуляции яичников привело не только к эффективному снижению эндогенного тромбинового потенциала, но и к значительному (в 6,4 раза) увеличению числа случаев наступления беременности.

Ключевые слова: *экстракорпоральное оплодотворение — беременность — факторы риска неудач — тест генерации тромбина — бемипарина натрия***.**

USING OF BEMIPARIN SODIUM FOR IMPROVING OF IN VITRO FERTILIZATION EFFICIENCY

I.V. Lydina

Altai State Medical University,
Ministry of Public Health and Social Development of Russian Federation, Barnaul, Russia

Method of *in* fertilization (IVF) is widely spread for infertility treatment. The failures of IVF are associated with several factors, including high blood thrombogenicity. Based on selected values of thrombin generation test we formed group of women for heparin prophylaxis in IVF cycle. Usage of low-molecular weight heparin of second generation (bemiparin sodium) during planned ovarian hyperstimulation resulted in effective reduction of endogenous thrombin potential and also to considerable (6.4 times) increasing of pregnancy cases.

Keywords: *in vitro fertilization — pregnancy — factors of risk failures — thrombin generation test— bemiparin sodium.*

ВВЕДЕНИЕ

Бесплодие и упорное невынашивание беременности входят в число наиболее серьезных проблем современной медицины, требующих междисциплинарного подхода к своему решению. При неудачах беременности активно применяются вспомогательные репродуктивные технологии, включающие в себя экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), дающие радость материнства во многих случаях [1]. Однако, несмотря на большой нтерес к этой высокотехнологичной и финансово затратной медицинской технологии, результативность ЭКО в мире и в России сравнительно низка и составляет 25-30%, причем за последние годы этот показатель заметно не менялся [1, 2].

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

Лыдина Инна Валерьевна – аспирант лаборатории гематологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития Российской федерации.

Адрес: 656024, Россия, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1.

E-mail: polgert_inna@mail.ru *Статья* поступила *29.10.2012, принята к печати 30.11.2012.*

УДК 618.177-089.888.11:615.273.52

В соответствии с современными представлениями, неудачи ЭКО связывают с целым рядом причин, к числу которых помимо мужского фактора (олигозооспермия) и гинекологических факторов риска (синдром ги- перстимуляции яичников, низкий овариальный резерв, нарушение им плантационных свойств эндометрия, недостаточное количество перенесенных эмбрионов) относят повышенную склонность к свертыванию крови [3, 4]. Последняя обуславливается многими причинами — тромбогенностью самой медицинской технологии в связи с эстроген- гестагеновой нагрузкой и частым наличием у женщин, нуждающихся в ЭКО, факторов тромбогенного риска и склонности к внутри- сосудистому свертыванию крови или тромбо- филии. Для снижения тромбогенности в цикле ЭКО описано применение низкомолекулярных гепаринов (НМГ) [5, 6]. Тем не менее, рекомендованных и обоснованных критериев для уверенного отбора нуждающихся в гепаринопрофилактике женщин при выполнении этой репродуктивной технологии мы не нашли. Для этого в настоящей работе использовали тест калиброванной тромбографии (ТКТ), отражающий динамику и интенсивность образования тромбина — ключевого фермента системы свертывания крови [7-9]. Именно на его основе нами были отобраны кандидаты для проведения гепаринопрофилактики с применением недавно зарегистрированного в России бемипарина натрия — представителя второго поколения НМГ [10].

Целью настоящего исследования явился анализ эффективности применения бемипарина натрия для коррекции высокой тромбогенности крови и увеличения числа положительных исходов ЭКО с позиций наступления беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 74 женщины (средний возраст — 33,8 ± 0,4 года) из числа обратившихся в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции КГБУЗ «Краевая клиническая больница» г. Барнаула для прохождения программы ЭКО в связи с бесплодием. Контрольная группа была сформирована из 20 практически здоровых женщин того же возраста. Для индукции суперовуляции использовали стандартные протоколы ЭКО, принятые в профильных специализированных центрах России. По статистике 2011 года результативность цикла ЭКО (по наступлению беременности) в данном Центре была равной 33,1%. Для коррекции системы гемостаза у 10 пациенток применяли бемипарин натрия (Цибор® 3500), который вводили подкожно по 3500 МЕ один раз в сутки на протяжении 10-14 дней.

Обследование проводили в динамике: перед началом гормональной стимуляции (исходный фон — 1 точка наблюдений), за 2-3 дня до пункции фолликулов яичника (2 точка наблюдений) и на 12-14 день после переноса эмбрионов (3 точка наблюдений), когда исход относительно наступления беременности при проведении ЭКО был уже известен по результатам определения (3-хориогонического гонадотропина.

Венозную кровь отбирали из локтевой вены в пробирки VACUETTE, с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%). Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 минут при комнатной температуре. Перед проведением лабораторных исследований обедненную тромбоцитами плазму крови хранили при температуре -40° С. Оценку ТКТ в исследуемых образцах плазмы выполняли с помощью планшетного флюориметра Fluoroskan Ascent «ThermoFisher SCIENTIFIC». Коагуляцию плазмы крови проводили в присутствии 5 пкмоль тканевого фактора и 4 мкмоль фосфолипидов. Учитывали следующие показатели генерации тромбина: 1) эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТИ, нмоль×мин.) — оценивающий площадь под кривой генерации тромбина и учитывающий особенности инактивации этого фермента; 2) пиковая концентрация тромбина (ПКТ, нмоль/л) — фиксирующая максимальную концентрацию тромбина в единицу времени.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программ Microsoft Excel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc 12.2.1. Достоверность различий между средними величинами определяли с помощью критерия значимости Стьюдента (t). Нормальность распределений в группах оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Когда данные были представлены в виде процентов или частот, использовали точный критерий Фишера. Статистически значимыми принимались различия $p< 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех пациенток на 2-й точке цикла ЭКО наблюдали избыточную генерацию тромбина в плазме крови. В частности, ЭТП в плазме крови у них составил 1972,6 ±46,7 нмолm×мин., в контрольной группе —

1765,7±29,5 нмоль×мин. (p< 0,001), а ПКТ — 398,5±5,4 нмоль/л, в контрольной группе — 330,1 ± 6,2 нмоль/л (p < 0,001).

Назначение профилактических доз беми- парина натрия 10 женщинам, начиная с середины цикла ЭКО, приводило к эффективному снижению показателей генерации тромбина **(табл.** 1). Так, ЭТП между 2-й и 3-й точками наблюдений снизился на 27,1% при гепари- нопрофилактике по сравнению с 3,6% у женщин, не получавших антикоагулянт (p < 0,01).

Похожую динамику имела и ПКТ, значения которой уменьшились на 49,2% и 1,8%, соответственно (p < 0,001).

В соответствии с полученными данными, частота благоприятных исходов ЭКО у 64 женщин, нуждавшихся в в гепаринопрофи- лактике, но не прошедших ее, составила 6,2% **(табл. 2). У** пролеченных же бемипарином натрия пациенток этот показатель оказался существенно выше — в 6,4 раза (p < 0,001).

Следовательно, назначение НМГ привело у наших пациенток к выраженному и положительному клиническому результату.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты свидетельствуют, что избыточная генерация тромбина в цикле ЭКО имеет важное значение для исходов этой репродуктивной технологии. Применение же НМГ (бемипарина натрия) приводит не только к эффективному снижению тромбогенного потенциала, но и значительному (в 6,4 раза) увеличению числа положительных исходов ЭКО.

Таблица 1

Динамика показателей теста калиброванной тромбографии у женщин на протяжении цикла ЭКО в зависимости от антикоагулянтного вмешательства (M±m)

Показатель	Нуждавшиеся в лечении женщины, но не прошедшие его (n = 64)			При прохождении гепаринопрофилактики (n=10)		
	Точка наблюдения			Точка наблюдения		
	1	2	3	1	2	3
ЭТП (нмоль,-	1461,2±27,3	1849,3±29,3	1782,4±35,4*	1343,5±69,7	2096,2±64,7	1639,6±61,5
ПКТ (кмопь/п)	310,1±6.2	382,4±5,1	375,6±7,5*	245,2±20,1	397,3±5,7	266,2±24,2◊

Примечание: *p<0,5; #p<0,02; ◊p<0,001 — различия достоверны между 2-й и 3-й точками наблюдений.

Таблица 2

Влияние бемипарина натрия на частоту положительных исходов у женщин с высокой тромбогенностью плазмы крови в цикле ЭКО

Нуждающиеся в лечении женщины, но не прошедшие его (n=64)			При прохождении гепаринопрофилактики (n=10)		
Всего	Из них забеременели	%	Всего	Из них забеременели	%
64	4	6,2	10	4	40,0

ЛИТЕРАТУРА

1. Радзинский В.Е., Алеев И. А. Бесплодие и экстракорпоральное оплодотворение в свете контраверсий (по данным VII Всемирного конгресса «Противоречия в акушерстве, гинекологии и фертильности») // Акушерство и гинекология, — 2006. — № 1. — С. 60-62. .
2. Вартанян Э. В., Айзикович И. В., Антонов А. Р. Причины неудач ЭКО (обзор литературы) // Проблемы репродукции. — 2010. — №3. — С. 57-61.
3. Martinez-Zamora M. A., Creus M., Tassies D. et al. Reduced plasma fibrinolytic potential in patients with recurrent implantation failure after IVF and embryo transfer// Hum. Reprod. - 2011. - Vol. 26, №3. - P. 510-516.
4. Westerlund E., Hennksson P., Wallen H. et al. Detection of a procoagulable state during controlled ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization with global assays of haemostasis //' Thromb. Res. - 2012. - Vol. 46. №4. - P. 417-425.
5. Nelson S. M., Greer I. A. The potential role of heparin in assisted conception //' Human Reproduction Update. - 2008. - Vol. 14, № 6 . - R 623-645.
6. Urman B. Ata B., Yakin K. et al. Luteal phase empirical low molecular weight heparin administration in patients with failed ICSI embryo transfer cycles: a randomized open-labeled pilot trial // Hum. Reprod. - 2009. - Vol. 24, №7. - P. 1640-1647.
7. Наместников Ю. А. Тест генерации тромбина — интегральный показатель состояния системы свертывания крови // Гематология и трансфузиология. — 2010. - Т. ,55, № 2. - С. 32-39.
8. Hemker H.C., Al Dieri R., De Smalt F. et al. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-lhrom- botic system // Thromb. Haemost. — 2006. - Vol. 96, №5. - P. 553-561.
9. Hemker H.C., Giesen P. L. A., Ramjee M, et al. The throrabogramm: Monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma // Thromb. Haemost. — 2000. — Vol. 83, №4. - R .589-591,
10. Шулутко Е. М. Бемипарин — низкомолекулярный гепарин второго поколения в лечении и профилактике венозных тромбоэмболий // Трудный пациент. — 2011. - Т. 9, №4. – С. 42-49.

Роль нарушений гемостаза и фибринолиза, а также их терапевтической коррекции, в исходах ЭКО и ранних репродуктивных потерях

Д.м.н., проф. А.П. МОМОТ[1,2]*, асп. О.П. ТОМИЛИНА[3], к.м.н. И.В. МОЛЧАНОВА[3], В.Г. ШИПУЛИНА[3], д.м.н., проф. Л.П. ЦЫВКИНА[1,2], д.м.н. Г.В. СЕРДЮК[1,2], к.м.н. О.Г. БОРИСОВА[3], к.м.н. Н.А. СЕМЕНОВА[3]

[1]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России; [2]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России; [3] КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, Россия

Цель исследования — оценить роль нарушений гемостаза и фибринолиза в исходах ЭКО и ранних репродуктивных потерях.
Материал и методы. Определяли значение избыточной генерации тромбина и низкой фибринолитической активности крови в неудачах циклов ЭКО, а также необходимость их терапевтической коррекции для улучшения исходов данной репродуктивной технологии.
Результаты. Применение низкомолекулярных гепаринов (в повышенных профилактических дозах) и перемежающей пневматической компрессии при наличии соответствующих показаний во время проведения ЭКО позволило уменьшить число неудач наступления беременности (на 24—39%) и в 3,2 раза снизить частоту репродуктивных потерь в I триместре беременности.

Ключевые слова: *экстракорпоральное оплодотворение, беременность, генерация тромбина, гипофибринолиз, гепаринопрофилактика, вазокомпрессия, ранние репродуктивные потери.*

The role of hemostasis and fibrinolysis disorders and their therapeutical correction for IVF outcomes and early reproductive losses

A.P. MOMOT[1,2], O.P. TOMILINA[3], I.V. MOLCHANOVA[3], V.G. SHIPULINA[3], L.P. TSYVKINA[1,2], G.V. SERDYUK[1,2], O.G. BORISOVA[3] , N.A. SEMENOVA[3]

[1]Altai branch FSBI «Hematology Research Center», Russian Ministry of Health; [2]State Budget Educational Institution of Higher Vocational Education «Altai State Medical University» Russian Ministry of Health; [3]Regional State Budget Institution of Health «Regional Clinical Hospital», Barnaul, Russia

Objective. To study the value of thrombin generation excess and low blood fibrinolytic activity for pregnancy failure in IVF, as well as the need for their correction to improve the outcomes of the reproductive technology.
Materials and methods. 252 patients with infertility and 191 women with pregnancy after IVF were investigated.
Results. The use of low molecular weight heparins (in high prophylactic doses) and intermittent pneumatic compression with appropriate evidence during IVF allowed to reduce the number of pregnancy failures (24—39%) and resulted in 3.2 times lower incidence of reproductive losses in the I pregnancy trimester.
Conclusion. The hemostasis and fibrinolysis disorders play the important role in IVF outcomes.

Key words: in vitro fertilization (IVF), pregnancy, thrombin generation, hypofibrinolysis, heparin prophylaxis, calf-thigh compression, early reproductive losses.

Патология в системе гемостаза рассматривается в качестве одной из причин не только осложнений естественно наступившей беременности (замершая беременность, самопроизвольный выкидыш, преждевременная отслойка плаценты, преэклампсия и ряд других), но и неудач наступления беременности при вспомогательных репродуктивных технологиях. Частота наступления беременности после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), по современным данным, относительно невелика 25—30% [1—3]. В дальнейшем, до 50% забеременевших после использования данной репродуктивной технологии женщин сталкиваются с потерей беременности, прежде всего в I триместре [4, 5].

Ранее по результатам обследования 327 женщин нами было показано, что избыточная генерация тромбина в плазме крови и/или низкая фибринолитическая активность в цикле ЭКО наблюдаются у 77,1% обратившихся за этим высокотехнологичным видом медицинской помощи женщин (в 252 случаях из 327) [6—9]. Обоснованное (по имеющимся показаниям) назначение низкомолекулярных гепаринов (НМГ) способствовало снижению числа неудач наступления беременности после ЭКО на 33,3% (с 93,7 до 60,4%), а сочетание гепаринопрофилактики с перемежающей пневматической компрессией (ППК) в целях коррекции низкой фибринолитической активности крови — на 38,9% (с 92,9 до 54,0%).

Цель настоящей работы — подтверждение недавно опубликованных нами данных, а также оценка частоты и структуры ранних потерь беременности,

Для корреспонденции:
*e-mail: xyzan@yandex.ru

наступившей в результате ЭКО, в зависимости от наличия или отсутствия нарушений в системах гемокоагуляции и фибринолиза, а также их терапевтической коррекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В рамках проспективного анализа были получены данные о 252 женщинах, обратившихся в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции при Краевой клинической больнице Барнаула в период с 2013 по 2014 г. для прохождения программы ЭКО в связи с бесплодием, и 191 пациентке, забеременевшей в цикле ЭКО в период с 2010 по 2014 г. Представленное исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Алтайского медицинского университета, и все участники подписали информированное согласие.

Критерием отбора пациенток в исследование стало бесплодие любой формы, не поддающееся традиционной терапии. Критерии исключения: соматические заболевания, являющиеся противопоказаниями для вынашивания беременности и родов, врожденные пороки развития или приобретенные деформации полости матки, при которых невозможна имплантация эмбрионов или вынашивание беременности; опухоли яичников, доброкачественные опухоли матки, требующие оперативного лечения, острые воспалительные заболевания любой локализации; злокачественные новообразования.

Все пациентки принадлежали к европеоидной расе, их возраст составил от 24 до 42 лет (средний возраст 33,8±3,96 года). Среди причин бесплодия преобладал трубный фактор (87,3%).

Для индукции суперовуляции использовались стандартные протоколы (классический длинный протокол, протокол с антагонистами). Наступление беременности диагностировали с помощью ультразвукового исследования на 21-е сутки после переноса эмбриона [6].

При исследовании системы гемостаза в плазме стабилизированной цитратом крови измерялся эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТП) и пиковая концентрация тромбина (ПКТ) в тесте генерации тромбина (калиброванной тромбографии), как описано в предыдущих публикациях [6, 7]. Кроме того, определялось время лизиса сгустка эуглобулинов из плазмы крови, активированного коалином (XIIa-зависимый фибринолиз) [10], с помощью набора реагентов Фибринолиз-тест фирмы «Технология-Стандарт», Барнаул. Данный критерий был использован в связи с хорошей сопоставимостью его результатов с итогами оценки индекса АФСЭ (активирующей фибринолиз способности эндотелия), рассчитываемого по соотношению активности тканевого активатора плазминогена (t-PA) и его антагониста — ингибитора активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1), а также большей доступностью для отечественных лабораторий [7, 8].

Обследование проводилось 3 раза — в день вступления в программу ЭКО, до начала управляемой гиперстимуляции яичников (1-я точка наблюдений), за 2—3 дня до пункции фолликулов яичника (2-я точка наблюдений) и на 12— 14-й день после переноса эмбрионов (3-я точка наблюдений).

В целях терапевтической коррекции использовались повышенные профилактические дозы надропарина кальция (0,6 мл в сутки) или бемипарина натрия (3500 МЕ в сутки), подкожно, со 2—3-го дня после пункции яичника. При наличии показаний наряду с назначением НМГ для усиления фибринолитической активности крови проводился курс ППК с помощью прибора Пневмомассажер ПМ-01 (Россия), как описано ранее [6—8].

Кроме того, проводился анализ ранних репродуктивных потерь у женщин, получавших лечение в цикле ЭКО, с точки зрения имеющихся нарушений гемостаза и фибринолиза (основная группа, n=100) и у женщин, не нуждающихся в таком лечении, во время стимуляции суперовуляции (группа сравнения, n =91), забеременевших после прохождения ЭКО.

Статистическая обработка полученных данных осуществлена с использованием программ Microsoft Offis Exel 2003, Statistica 6.1. Результаты исследования оценивались методом вариационной статистики с применением критерия Фишера. Статистически значимыми принимались различия при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В начале работы проведено выявление нарушений гемостаза и фибринолиза у 252 женщин в цикле ЭКО и оценка результатов терапевтической коррекции нарушений гемостаза и фибринолиза. Для решения вопроса о необходимости проведения гепаринопрофилактики учитывались показатели теста генерации тромбина: ЭТП (более 1900 нмоль/ мин) и/или ПКТ (более 360 нмоль/л), определенные на 2-й точке наблюдений, и XIIa-зависимого фибринолиза (время лизиса более 12 мин). Обоснование допустимых значений для данных показателей было приведено нами в предыдущей публикации [7]. В результате проведенных исследований избыточная генерация тромбина (в середине цикла ЭКО) была выявлена у 83 (32,9%) пациенток, а снижение фибринолитической активности крови (до вступления в цикл) у 121 (48,0%), в целом у 80,9% обратившихся женщин.

Следует отметить, что 56 (22,2%) пациенток по разным причинам не прошли предложенную нами терапию, направленную на коррекцию нарушений гемостаза и фибринолиза, несмотря на наличие показаний после лабораторного исследования системы гемостаза **(табл. 1)**.

Таблица 1. **Влияние терапевтической коррекции избыточной генерации тромбина и гипофибринолиза на частоту неудач наступления беременности в цикле ЭКО**

Способ терапевтического воздействия	Нуждающиеся в лечении, но не прошедшие его (*n*=56)			Нуждающиеся в лечении и прошедших лечение (*n*=148)		
	абс.	из них забеременели	неудачи ЭКО, %	абс.	из них забеременели	неудачи ЭКО, %
НМГ	17	1	94,2	66	28	57,6
ППК + НМГ	39	5	87,2	82	30	63,5
Всего	56	6	89,3	148	58	60,8

Таблица 2. **Влияние терапевтической коррекции избыточной генерации тромбина и гипофибринолиза в цикле ЭКО на частоту ранних репродуктивных потерь у забеременевших женщин**

Репродуктивные потери	Основная группа (*n*=100)		Группа сравнения (*n*=91)	
	абс.	%	абс.	%
Замершая беременность	5	5,0	13	14,3
Самопроизвольный выкидыш	2	2,0	11	12,0
Эктопическая беременность	4	4,0	8	8,8
Всего	11	11,0	32	35,2

По результатам проведенных исследований, частота наступления беременности в цикле ЭКО в группе женщин, получивших лечение, составила 39,2% (у 58 из 148). В то время как у женщин с высокой генерацией тромбина и низкой фибринолитической активностью крови и не прошедших лечение частота наступления беременности была в 3,7 раза меньше и составила 10,7% (у 6 из 56).

В группе женщин без нарушений в системе гемостаза и фибринолиза частота наступления беременности была наибольшей — 47,9% (у 23 из 48). В целом, частота наступления беременности после ЭКО у всех наблюдавшихся женщин (*n*=252) равнялась 34,5%.

Таким образом, применение НМГ при избыточной генерации тромбина снижало число неблагоприятных исходов ЭКО на 37,1% (с 94,2 до 57,6%; *p*=0,004), а сочетание гепаринопрофилактики с ППК — на 23,7% (с 87,2 до 63,5%; *p*=0,009). Эти данные подтверждают ранее полученные и опубликованные материалы [6—9].

Во второй части работы был проведен учет и анализ репродуктивных потерь в первом триместре беременности, наступившей после прохождения ЭКО (*n*=191). Неблагоприятные исходы беременности на ранних сроках определены, в целом, у 43 (22,5%) женщин **(табл. 2)**.

В то же время в основной группе пациенток число репродуктивных потерь на ранних сроках беременности оказалось в 3,2 раза ниже, чем в группе сравнения (*p*=0,0001). При анализе структуры репродуктивных потерь также установлено, что замершая беременность встречалась в основной группе в 2,9 раза реже по сравнению с группой сравнения (*p*=0,045), самопроизвольные выкидыши соответственно в 6,0 раза реже (*p*=0,008), а эктопическая беременность — в 2,2 раза реже (*p*<0,23).

Можно предположить, что предпринятые меры терапевтического воздействия на систему гемостаза и фибринолиз способствуют более эффективной инвазии трофобласта и полноценному формированию плаценты, что и приводит к меньшему числу репродуктивных потерь в ранние сроки беременности после ЭКО. В следующих публикациях мы остановимся на сравнительной оценке встречаемости таких осложнений беременности (у принятых в данное исследование женщин), как преэклампсия, предлежание или преждевременная отслойка плаценты, задержка внутриутробного развития плода и ряд других, будут учтены показатели перинатальной смертности.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования подтвердили недавно опубликованные нами данные о значении избыточной генерации тромбина и низкой фибринолитической активности крови для неудач наступления беременности в цикле ЭКО, а также необходимости их терапевтической коррекции для улучшения исходов данной репродуктивной технологии (в целом, по результатам анализа 579 наблюдений в период с 2010 по 2014 г.).

2. Применение НМГ (в повышенных профилактических дозах) и ППК при наличии соответствующих показаний во время проведения ЭКО (в «окне имплантации») позволяет не только уменьшить число неудач наступления беременности (на 24—39%), но и существенно (в 3,2 раза) снизить частоту репродуктивных потерь в I триместре беременности.

3. Спектр полученных результатов и современный уровень научных знаний в этом направлении позволяют обозначить новую, репродуктивную, функцию системы гемостаза в качестве непосредственного участника и непременного условия наступления и благоприятного течения беременности.

Работа проведена в рамках проекта «Исследование молекулярных механизмов зависимости результатов экстракорпорального оплодотворения от нарушений в системе гемостаза», поддержанного грантом РФФИ, договор №НК 14-04-98005/14 от 27.02.14.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г.* Факторы, влияющие на исходы ЭКО (обзор литературы). Пробл репрод 2010; 1: 68—74.
2. *Вартанян Э.В., Охтырская Т.А., Яворовская К.А., Шуршалина А.В., Назаренко Т.А.* Имплантационные потери в программах ЭКО: роль наследственной и приобретенной тромбофилии (обзор литературы). Пробл репрод 2010; 2: 53—57.
3. *Nyboe Andersen A., Goossens V., Bhattacharya S.* The European IVF-monitoring (EIM) Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE: ESHRE. The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Hum Reprod 2009; 24: 6: 1267—1287.
4. *Корсак В.С., Громыко Ю.Л., Исакова Э.В.* Алгоритм ведения и исходы беременностей, наступивших в результате вспомогательных репродуктивных технологий. Пробл репрод 2003; 9: 3: 40—42.
5. *Курцер М.А., Краснопольская К.В., Ероян Л..Х.* Перинатальные исходы у пациенток после ЭКО. Акуш и гинекол 2003; 2: 60— 61.
6. *Момот А.П., Лыдина И.В., Борисова О.Г., Елыкомов В.А., Цывкина Л.П.* Экстракорпоральное оплодотворение и управление гемостазом. Пробл репрод 2012; 18: 6: 47—55.
7. *Момот А.П., Молчанова И.В., Цывкина Л.П., Лыдина И.В., Борисова О.Г.* Пути прогресса в улучшении результатов экстракорпорального оплодотворения, основанного на выявлении и коррекции патологии гемостаза (II). Тромбоз гемостаз и реол 2013; 2: 6—23.
8. *Момот А.П., Цывкина Л.П., Лыдина И.В., Борисова О.Г.* Пути прогресса в улучшении результатов экстракорпорального оплодотворения, основанного на выявлении и коррекции патологии гемостаза (I). Тромбоз гемостаз и реол 2013; 1: 5—17.
9. *Momot A., Lydina I., Tsyvkina L., Borisova O., Serduk G.* The Means of Progress in Improving the Results of in vitro Fertilization Based on the Identification and Correction of the Pathology of Hemostasis. / Enhancing Success of Assisted Reproduction. Ed. M.M. Atef. Darwish— Croatia: InTech Open Acc Publ 2012; 77— 116.
10. *Баркаган З.С., Момот А.П.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. В кн.: Монография. Изд. 3-е. М: Изд-во Ньюдиамед 2008.

Коллектив авторов, 2014

А.П. МОМОТ[1,2], П.А. КИРЮЩЕНКОВ[3], Д.А.ТРУХИНА[4], И.А. ТАРАНЕНКО[1,2], О.П. ТОМИЛИНА[2,4],М.В. ПЫХТЕЕВА[4], Н.И. ФАДЕЕВА[2], Л.П. ЦЫВКИНА[1,2], Г.В. СЕРДЮК[1,2], Д.Е. БЕЛОЗЕРОВ[4], В.В. РОМАНОВ[5]

РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ УРОВНЯ И АКТИВНОСТИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА, МЕТААЛОПРОТЕИНАЗЫ A DAMTS-13, АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

[1]Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Барнаул

[2]ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул

[3]ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва

[4]КГБУ Краевая клиническая больница Минздрава России, Барнаул

[5]ООО «Инвитро-Сибирь», Новосибирск

Цель исследования. *Установить допустимые диапазоны значений агрегации тромбоцитов, активности и количества фактора Виллебранда (ФВ) и металлопротиназы ADAMTS-13 при физиологически протекающей беременности.*

Материал и методы. *Обследована 301 женщина вне беременности, в различные сроки физиологически протекающей беременности и на 2—3-е сутки после самопроизвольных родов. Методом агрегатометрии и иммуноферментного исследования плазмы крови исследовались функция тромбоцитов, уровень и активность ФВ и металлопротеиназы ADAMTS-13.*

Результаты исследования. *Определено повышение чувствительности тромбоцитов к АДФ (в дозе 0,1 мкМ) у беременных женщин, что сочеталось с увеличением ристоцетин-кофакторной активности ФВ от исходных значений в 1,19 и 1,42 раза соответственно на 22—24-й и 34—36-й неделе гестации. Наиболее заметная динамика подъема уровня антигена ФВ наблюдалась с 12—13-й недели беременности. Уровень активности и антигена металлопротеиназы ADAMTS-13 в интервале с 6-й по 13-ю недели беременности не отличался от показателей, установленных у небеременных женщин. В последующем начиная с 22-й недели и до поздних сроков гестации наблюдалось снижение уровня данного фермента - по активности на 26,4-39,2% и по антигену 28,7—31,7% по сравнению с данными вне беременности. В проведенных исследованиях у женщин во время физиологически протекающей беременности и после родов коэффициент корреляции Спирмена между активностью ФВ и активностью фермента ADAMTS-13 составил – 27 (P<0,001), а между антигенами ФВ и металлопротеиназы ADAMTS-13 был равен — 0,32 (P<0,001).*

Заключение. *Установлено прогрессирующее (с 12-13-й недели физиологически протекающей беременности) увеличение активности и содержания ФВ на фоне снижения активности и уровня металлопротеиназы ADAMTS-13. Приведенные данные уточняют механизмы активации тромбоцитов и могут быть использованы в качестве ориентировочных значений в рамках исследования системы гемостаза у беременных женщин и формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам.*

Ключевые слова: *агрегация тромбоцитов, фактор Виллебранда, металлопротеиназа ADAMTS-13, физиологически протекающая беременность, группы риска.*

A.P. MOMOT[1,2], P.A. KIRYUSHCHENKOV[3], D.A. TRUKHINA[4], I.A. TARANENKO[1,2], O.P. TOMILINA[2,4], M.V. PYKHTEEVA[4], N.I. FADEEVA[2], L.P. TSYVKINA[1,2], G.V. SERDYUK[1,2], D.E. BELOZEROV[4], V.V. ROMANOV[5]

REFERENCE RANGES FOR VON WILLEBRAND FACTOR AND ADAMTS-13 METALLOPROTEINASE LEVELS AND ACTIVITY AND PLATELET ACTIVITY IN PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

[1]Altai Branch, Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia, Barnaul

[2]Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia, Barnaul

[3]Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow

[4]Territorial Clinical Hospital, Ministry of Health of Russia, Barnaul

[5]OOO "Invitro-Sibir", Novosibirsk

Objective. *To establish allowable ranges for platelet aggregation and von Willebrand factor (vWF) and ADAMTS-13 metalloproteinase activity and levels in physiological pregnancy.*

Subject and methods. *Examinations were performed in 301 females who were nonpregnant or physiologically pregnant at different stages and 2-3 days after spontaneous labor. Aggregatometry and enzyme immunoassay were used to study platelet function and vWF and ADAMTS-13 levels and activity.*

Results. *The pregnant women showed an increased platelet susceptibility to ADP (0.1 μM), which was associated with 1.19 and 1.42-fold vWF ristocetin cofactor activity increases relative to the baseline values at 22-24 and 34-36 weeks gestation, respectively. The most noticeable change in vWF antigen levels was observed at 12-13 weeks gestation. The levels of the activity and antigen of ADAMTS-13 at 6 to 13 weeks' gestation were similar to those in the nonpregnant women. Subsequently, at 22 weeks to late periods of pregnancy, there was a decrease in this enzyme — in its activity and antigen by 26.4-39.2 and 28.7-31.7%, respectively, as compared to those seen in the nonpregnant women. The investigations indicated that in physiological pregnancy and postpartum, the Spearman correlation coefficient between the activities of vWF and the enzyme ADAMTS-13 was-27(P< 0.001) and that between the antigens of vWF and ADAMTS-13 was equal to -0.32 (P < 0.001).*

Conclusion. *There was a progressive increase in vWF activity and levels (at 12-13 weeks of physiological pregnancy) along with decreases in ADAMTS-13 activity and levels. The given data specify the mechanisms of platelet activation and may be used as estimated values while studying the hemostatic system in pregnant women and forming groups at risk for bleeding and thrombosis.*

Key words: *platelet aggregation, von Willebrand factor, ADAMTS-13 metalloproteinase, physiological pregnancy, risk groups.*

Беременность как физиологическое явление — сложный феномен, сопровождающийся формированием особых механизмов равновесия всех реакций жизнедеятельности. Беременность, роды, послеродовой период связаны со многими гемостазиологическими осложнениями, а также заболеваемостью и смертностью у матери и плода [1, 2]. Беременность сама по себе ассоциируется с прогрессирующей во времени тромбогенностью, формируемой организмом матери для снижения кровопотери в родах [3, 4], что непосредственно связано с гормональными изменениями, приводящими к повышению риска артериальных и венозных тромбозов. Данные обстоятельства подчеркивают необходимость динамического исследования системы гемостаза в различные сроки беременности.

Имеется ряд сообщений, касающихся нормативных значений тех или иных показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности [5-10]. Тем не менее, работ, посвященных комплексной оценке «глобальных» параметров сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза - тромбоцитов, фактора Виллебранда (ФВ) и контролирующего его фермента - металлопротеиназы ADAMTS-13 во время физиологически протекающей беременности мало. Мы полагаем, что продолжение работ в этой области имеет большое значение не только для «вооружения» клинической практики нормативными данными для формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам, но позволит описать ранее неизвестные особенности уникального гемостатического баланса на протяжении беременности.

Материал и методы исследования

В рамках проспективного исследования были получены данные о 301 женщине, обследованной в женских консультациях и родильном доме № 2 г. Барнаула в период с 2011 по 2012 г. Исследования выполнялись в лаборатории патологии гемостаза КГБУЗ Краевая клиническая больница (г. Барнаул) при участии сотрудников Алтайского филиала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России и лаборатории ООО «Инвитро-Сибирь», г. Новосибирск. Представленное исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета и все участники дали свое информированное согласие.

С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушером-гинекологом, терапевтом и гематологом, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет.

Критерии исключения: возраст старше 35 лет; отягощенный акушерский и гинекологический анамнез; осложненное течение настоящей беременности; отягощенный личный геморрагический или тромботический анамнез; прием комбинированных оральных контрацептивов в течение 3 последних месяцев до наступления настоящей беременности; вспомогательные репродуктивные технологии в анамнезе или при настоящей беременности; оперативное родоразрешение в анамнезе или при настоящей беременности; наличие экстрагенитальной патологии, в том числе сахарного диабета, бронхиальной астмы, эндокринной патологии, наличие клинических проявлений мезенхимальной дисплазии, протезы клапана сердца и сосудов, острый пиелонефрит, цистит или обострение их хронического течения, злокачественные новообразования, носительство вируса иммунодефицита человека, вирусного гепатита В и/или С; прием лекарственных препаратов во время настоящей беременности, влияющих на систему гемостаза (антиагреганты, нестероидные противовоспалительные препараты, антикоагулянты); отклонения в результатах лабораторного обследования;

уровень гомоцистеина в сыворотке крови (до беременности) свыше 15 мкМ, гемоглобин выше 140 г/л вне беременности и выше 135 г/л во время беременности, количество тромбоцитов в крови ниже 150 или выше $450x10^9$/л, количество лейкоцитов в крови более $12x10^9$/л; носительство мутаций *F5* Лейден (1691G>A) и/или *FII* (20210G>A), а также редкой гомозиготы *MTHFR* (677C>T), антифосфолипидный синдром и другие аутоиммунные состояния.

Отобраны следующие контрольные точки для исследования системы гемостаза, учитывающие волны инвазии трофобласта и отражающие «критические» сроки беременности: предгравидарный период, 6-8 недель, 12-13 недель, 22-24 недели, 34—36 недель и 2—3-е сутки после родоразрешения (таблица).

Исследования в предгравидарном периоде проводились преимущественно у первобеременных (81,5%).

Техника лабораторного обследования. Взятие венозной крови осуществлялось из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%), Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Для исследования агрегационной активности тромбоцитов плазма, обогащенная тромбоцитами, получалась путем центрифугирования отдельной порции цитратной крови при 160 g в течение 7 мин. Перед проведением иммуноферментных анализов плазму хранили при температуре —40°С от одних суток до одного месяца.

Агрегация тромбоцитов оценивалась в обогащенной тромбоцитами плазме крови с использованием реагента ADP (Helena Bioscience) на агрегометре Chronolog 490-D (CHRONO-LOG Corporation). Активность ФВ определялась в плазме крови по ристоцетин-кофакторной активности с реагентами Ristocetin Cofactor Kit (Helena Bioscience) на агрегометре AggRAM (Helena Laboratories). Количественное содержание ФВ изучалось с помощью реагентов vWF Ag (Siemens) на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 (Sysmex Corporation). Активность металлопротеиназы ADAMTS-13 изучали с помощью тест-системы ELISA, TECHNOZYM ADAMTS-13 Activity ELISA (Technoclone GmbH), а антиген ADAMTS-13 — на основе применения тест-системы TECHNOZYM ADAMTS-13 Antigen того же производителя на фотометре Bio-Rad 680 (Bio-Rad Laboratories).

Статистическая обработка полученных данных осуществлена с использованием программ Microsoft Offise Excel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc *12.2.1*. Использовался непараметрический критерий Манна—Уитни для двух независимых групп, а также ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Статистически значимыми принимались различия $P<0,05$. Для показателей каждого теста были рассчитаны референтные интервалы (2,5‰ - 97,5‰).

Результаты исследования

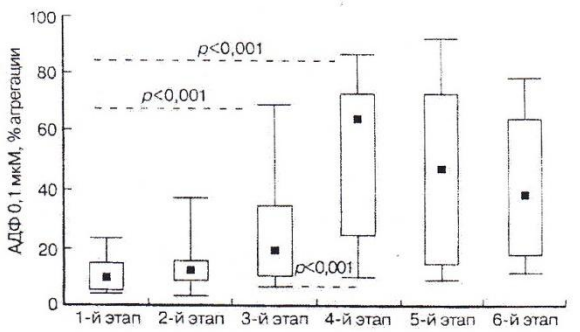
Первоначально были оценены особенности агрегации тромбоцитов в ответ на «малую» стартовую дозу динатриевой соли аденозиндифосфата (АДФ) - 0,1 мкМ, реагирующей с рецептором $P2Y_1$ и $P2Y_{12}$ тромбоцитов (рис. 1).

Определено, что уровень агрегации тромбоцитов при таком варианте оценки их функции у женщин вне беременности находится в достаточно широком диапазоне (от 4 до 30%) и значительно ниже, чем ответ у практически здоровых людей на использование рекомендованной в международных протоколах «высокой» стартовой дозы АДФ - 2,5 мкМ (обычно от 70 до 80%) [11, 12].

Повышение чувствительности тромбоцитов к АДФ в дозе 0,1 мкМ проявляло себя уже с ранних сроков беременности, а медиана максимального значения агрегации увеличивалась в 1,3-6,4 раза (в сравнении с данными у небеременных женщин), достигая максимума на 4-м этапе обследования (22-24-я неделя).

Интересно, что агрегация тромбоцитов с АДФ в стартовой дозе 2,0 мкМ у обследованных нами женщин вне беременности составляла 61,0-86% (в интервале 2,5‰ - 97,5‰) и не менялась на разных сроках гестации

Рис. 1. Динамика агрегации тромбоцитов с АДФ в стартовой дозе 0,1 мкМ



Примечание: здесь и в других рисунках медиана – горизонтальная разделяющая линия внутри прямоугольника; 50% полученных значений – прямоугольник; значения, соответствующие 2,5 и 97,5 перцентилю – нижний и верхний вертикальные бары.

Таблица. Характеристика обследованных женщин (*n*=301)

Признак	Предгравидарный период (*n*=54)	6-8 недель (*n* =54)	12-13 недель (*n* =43)	22-24 недели (*n*=59)	34-36 недель (*n* =40)	После родов (*n*=51)
Первобеременные, *n* (%)	44 (81,5%)	32 (59,3%)	25 (58,1%)	33 (55,9%)	29 (72,5%)	21 (41,2%)
Повторнобеременные, *n* (%)	10 (18,5%)	22 (40,7%)	18 (41,9%)	26 (44,1%)	11 (27,5%)	30 (58,8%)

(54,0-89,2%), что показывает низкую чувствительность и информативность подобных исследований.

Далее была оценена функциональная активность ФВ в различные сроки физиологически протекающей беременности. С этой целью измерялись значения ристоцетин-кофакторной активности, которая, как известно, характеризует потенциал ФВ, оцениваемый по агрегации с ристоцетином донорских тромбоцитов, помещенных в плазму пациента. Эта активность у женщин вне беременности находилась в пределах от 53,8 до 152,3% (рис. 2).

Ристоцетин-кофакторная активность ФВ возрастала по мере прогрессирования беременности, начиная с 12–13-й недели и увеличиваясь по медиане от исходных значений в 1,19 (P<0,008) на 22–24-й и 1,42 раза (P<0,001) на 34–36-й неделе гестации, оставаясь высокой в первые сутки после родоразрешения (P<0,001).

Определена корреляционная связь между ристоцетин-кофакторной активностью ФВ и агрегацией тромбоцитов с АДФ В «малой» дозе (r=0,21; P=0,02). Помимо активности ФВ в тех же образцах плазмы крови был исследован уровень антигена ФВ (рис. 3). Установлено динамичное повышение концентрации этого белка во время беременности - от исходного уровня на 20,6, 55,9, 86,3 и 154,9% (по медиане) соответственно на 2-м, 3-м, 4-м и 5-м этапах обследования. Максимальные значения этого показателя были зафиксированы на 2–3-е сутки после родоразрешения, с верхним пределом допустимых значений на уровне 291%.

Коэффициент корреляции между антигеном и активностью ФВ в плазме крови беременных женщин до и после родоразрешения составил 0,43 (P<0,001).

Также был проведен анализ динамики как активности, так и содержания металлопротеиназы ADAMTS-1 3 в плазме крови (рис. 4 и 5).

Диапазон допустимых значений активности этого фермента у женщин вне беременности и после

Рис. 2. Динамика ристоцетин-кофакторной активности ФВ

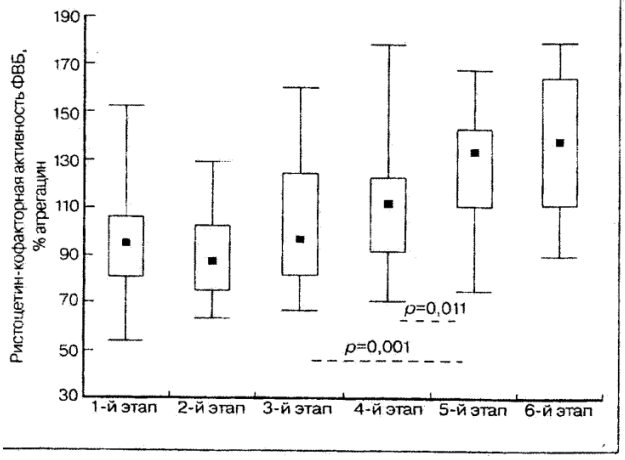


Рис. 3. Динамика уровня антигена ФВ в плазме крови

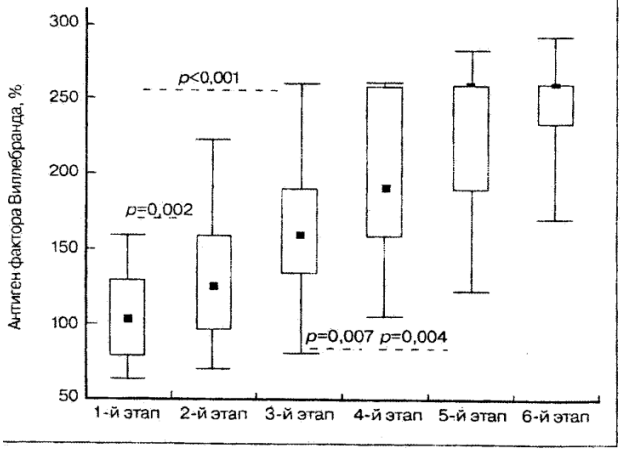


Рис. 4. Динамика активности фермента ADAMTS-13 в плазме крови

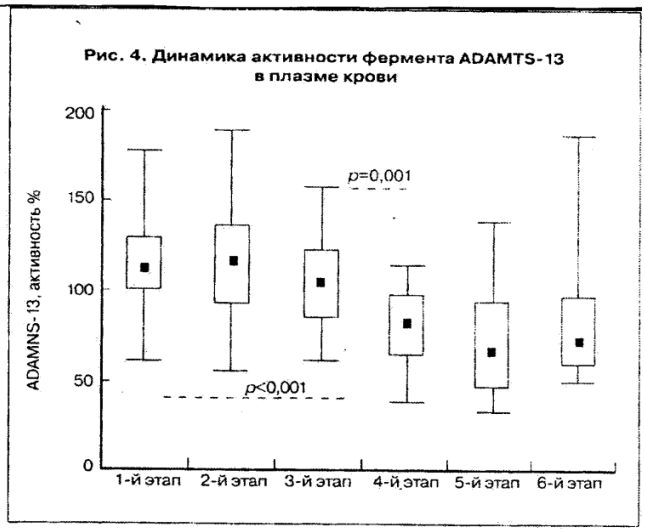
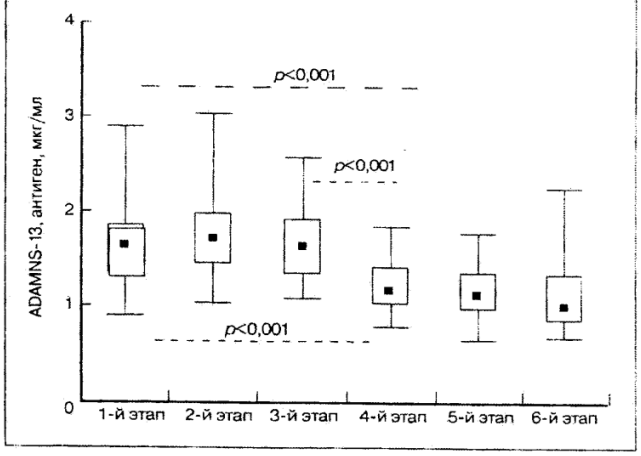


Рис. 5. Динамика уровня антигена металлопротеиназы ADAMTS-13 в плазме крови



родов составляет 50-142%, а его антигена 0,89 до 2,88 мкг/мл [13].

Полученные результаты указывают на достаточно стабильный уровень активности и антигена металлопротеиназы ADAMTS-13 в интервале с 6-й по 13-ю неделю беременности, сравнимый по величине с показателями, установленными у небеременных женщин.

В последующем, начиная с 22-й недели и до поздних сроков гестации, наблюдалось заметное снижение уровня данного фермента – по активности на 26,4–39,2% и по антигену на 28,7–31,7%, по сравнению с данными вне беременности. Кроме того, в ближайшие дни после родоразрешения активность и антиген фермента ADAMTS-13 оставались также сниженными, хотя у части женщин и имелась наклонность к увеличению их значений.

Установлена положительная корреляционная связь между антигеном и активностью металлопротеиназы ADAMTS-13 в плазме крови (r=0,41; P<0.001).

Обсуждение

В доступных литературных источниках нам встретилась лишь одна обстоятельная работа аргентинских исследователей [14], посвященная изучению активности фермента ADAMTS-13 в сопоставлении с антигеном ФВ в плазме крови при физиологически протекающей беременности, опирающаяся на более ранние исследования Mannucci и соавт. [15]. Согласно этой работе, учитывающей наблюдения у 325 женщин в возрасте от 14 до 41 года, снижение активности фермента ADAMTS-13 было зафиксировано в среднем до 65% нормы (в 17–23 недели), 61% (в 24-28 недель), 65% (в 29–35 недель), 58% (в 36–40 недель) и 52% (в первые двое суток после родоразрешения). Кроме того, в ней была определена зависимость между повышением антигена ФВ во время беременности и снижением количества фермента ADAMTS-13 (коэффициент корреляции Пирсона –0,22, P=0,0003).

Выявленное нами нарастание ристоцетин-кофакторной активности ФВ соответствуют результатам, приведенным Y. Stirling и соавт. [12], по итогам обследования 239 женщин, где ристоцетин-кофакторная активность ФВ увеличивалась, начиная с 16-й недели физиологически протекающей беременности, и достигала наибольшего значения в 36–40 недель (составляя в среднем 179%, с интервалом ±2s от 62 до 296%). В работе Н.Г. Беловой и соавт. [16] показано, что раннее начало преэклампсии (в 25–28 недель беременности) сопровождается увеличением ристоцетин-кофакторной активности ФВ в 1,78 раза (P<0,05).

Обращает на себя внимание, что в справочной таблице, опубликованной M. Abbassi-Ghanavati и соавт. [6], основанной на обзоре электронных баз данных с помощью PUBMED и MEDLINE (70 источников - с 1975 по 2008 г.) и предназначенной для интерпретации лабораторных исследований при физиологически протекающей беременности, приводятся лишь отрывочные данные о содержании ФВ в плазме крови (75–125% – вне беременности и 121–260% – в третьем триместре, 2,5‰ - 97,5‰). Более подробные данные в этом направлении имеются в ряде других работ [9, 12, 17], материалы которых в целом не противоречат полученным в настоящей работе результатам.

Предполагается, что повышение уровня ФВ при беременности связано с гиперэстрогенемией и активацией его синтеза эндотелием кровеносных сосудов [9, 18]. ФВ, как известно, представляет собой сложный мультимерный адгезивный гликопротеин (в мономерной форме 280 кДа), синтезируемый эндотелиальными клетками и мегакариоцитами [13]. Особая роль этого фактора в системе гемостаза определяется его структурой в виде серии неоднородных по размеру (от 0.5 до 20 млн Да) мультимеров, состоящих из многократно повторяющихся субъединиц, в которых имеются домены связывания с гликопротеиновыми рецепторами тромбоцитов (GPIb и IIb/IIIa), коллагеном, гепарином и VIII фактором свертывания крови. Он опосредует адгезию тромбоцитов к субэндотелию через взаимодействие с рецептором тромбоцитов - гликопротеином Ib [19]. Крупные мультимеры ФВ расщепляются металлопротеиназой ADAMTS-13 в процессе их секреции из эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных цитокинов [18]. Необычно большие мультимеры ФВ при низкой активности этого фермента инициируют активацию тромбоцитов и способны привести к тотальной тромбоцитопении и множественному образованию гиалиновых (тромбоцитарных) тромбов в микрососудах при тромботической тромбоцитопенической пурпуре - ТТП [13, 20].

Такая ситуация может возникнуть при наследственном дефиците секреции ADAMTS-13 или его сниженной активности, вызванной генными мутациями, или вследствие приобретенных дефектов активности ADAMTS-13, обусловленных аутоантителами [13]. Можно констатировать, что активность ФВ во время беременности находится в обратной связи с функциональной активностью металлопротеиназы ADAMTS-13, выделяемой эндотелием кровеносных сосудов и расщепляющей ФВ. В наших исследованиях у женщин во время физиологически протекающей беременности и сразу после родов коэффициент корреляции между активностью ФВ и активностью фермента ADAMTS-13 составил –0,27 (P<0,001), а между антигенами ФВ и металлопротеиназы ADAMTS-13 был равен –0,32 (P<0,001).

Неспособность деградировать крупные мультимеры ФВ связывается с наследственными и идиопатическими типами ТТП либо предрасполагает к сходным нарушениям [21, 22]. ТТП чаще встречается у женщин (66–78%), причем 12–25% эпизодов этой патологии связывается с беременностью [23], прежде всего в III триместре и в послеродовом периоде [24, 25]. Представляет интерес в этом отношении работа A. Lattuada и соавт [26], снижение активности фермента ADAMTS-13 у пациенток с HELLP-синдромом (в среднем до 31%, с вариацией от 12 до 43%) в сравнении с женщинами в III триместре физиологически протекающей беременности (в среднем 71%, с вариацией 48-105%) и небеременными женщинами (по средним данным – 10%,

с вариацией 45-152%). Активность фермента ADAMTS-13 часто опускается ниже предельного уровня при антифосфолипидном синдроме [27] септических состояниях и злокачественных новообразованиях [28, 29], обменных нарушениях, а также у новорожденных [15].

В целом, значимым для беременности является не столько повышение уровня ФВ, сколько снижение активности и антигена фермента ADAMTS-13, потенциально способствующее увеличению мультимерности этого фактора и повышающего активацию тромбоцитов по мере приближения к срокам родоразрешения.

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании установлены референтные значения результатов измерений ФВ и фермента ADAMTS-13 и агрегационной активности тромбоцитов на разных сроках беременности. Продемонстрировано прогрессирующее во времени физиологически протекающей беременности увеличение активности и содержания ФВ на фоне снижения активности и уровня металлопротеиназы ADAMTS-13 начиная с 12—13-й недели гестации. Этот факт может иметь важное значение для учета вероятности развития тромботических событий, связанных с избыточном активацией тромбоцитов на фоне низкой активности ADAMTS-13, и предполагает дальнейшие исследования в этом направлении.

Литература

1. *Савельев В.С.. Чазов ЕМ., Гусев ЕМ., Кириенко А.И., Акчурин Р.С., Андрияшкин В.В.* и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений. Флебология. 2010; 4(2-1); 2-37.// *Savelev V.S., Chazov E.I. Gusev E.I., Kirienko A.I.. Akchurin R.S., Anctriyashkin V.V.* i dr. Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profllaktike venoznyih tromboembolicheskih oslozhneniy. Flebologiya. 2010; 4(2—1); 2-37.
2. Pranchini M. Haemostasis and pregnancy. Thromb. Haemost. 2006; 95(3); 401–13.
3. *Баркаган З.С.. Цывкина Л.П.. Костюченко Г.И., Момот А.П.* Классификация, молекулярные механизмы и новые методы диагностики тромбофилий. Бюллетень Сибирского отделения РАМН. 2002: 104(2); 51–5. // *Barkagan Z.S.. Tsyivkina L.P., Kosryuclienko C.I.,Momt A.P.* Klassifikatsiva, molekulyarnyie mehamzmyi i novyie metodyi diagnostiki trombofiliy. Bvulleten Sibirskogo otdeleniya RAMN. 2002; 104(2); 51—5.
4. *Thornton P., Douglas J.* Coagulation in pregnancy. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2010; 24(3); 339-52.
5. *Бышевскии А.Ш., Полякова В.А., Рудзевич А.Ю.* Гемостаз при физиологическои беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклам-псией. Тромбоз, гемостаз и реология. 2010; 4; 13–30. //*Byishevskiy A.Sh., Polyakova V.A., Rudzevich A. Yu.* Gemostaz pri fiziologicheskoy beremennosti, beremennosti s arterialnoy gipertenziey i preeklampsiey. Tromboz. gemostaz *i* reologiya. 2010; 4; 13—30.
6. *Abbassi-Ghanavati M,, Greer L.G., Cunningham F.G.* Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. Obstet. Gynecol 2009; 114(6); 1326-31.
7. *Klajnbard A., Szecsi P.B., Colov N.P., Andersen M. R., Jorgensen M., Bjorngaard B.* et al. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period. Clin. Chem. Lab. Med. 2010; 48(2); 237—48
8. *Prisco D., Cuiti G., Falciani M.* Hemostatic changes in normal pregnancy. Haematol. Rep. 2005; 1(10); 1–5.
9. *Szecsi P.B., Jorgensen M., Klajnbard A., Andersen M.R., Colov N.P., Sremler S.* Haemostatic reference intervals in pregnancy. Thromb. Haemost. 2010; 103(4); 718—27.
10. Guidelines on platelet function testing. The British Society for Haematology BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force. J. Clin. Pathol. 1988; 41(12); 1322—30.
11. *Harrison P., Mackie I., Mumford A., Briggs C., Liesner R., Winter M.* et al.: British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. Br .J. Haematol 2011; 155(1); 30–44.
12. *Stirling Y., Woolf L., North W.R.S., Segltatchian M.J., Meade T.W.* Haemostasis in normal pregnancy. Thromb. Haemost. 1984; 52(2); 176—82.
13. *Moake J.L.* Thrombotic thrombocytopenic purpura. In; Kithens C.S., Alving B.M., Kessler C.M., eds. Consultative hemostasis and thrombosis. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007; 405–17.
14. *Sanchez-Luceros A., Farias C.E., Amaral M.M., Kempfer A.C., Volta R., Marchese C.* et al. von Willebrand factor-cleaving protease (ADA MTS 13) activity in normal non-pregnant women, pregnant and post-deliverv women. Thromb. Haemost. 2004; 92(6); 1320-6.
15. *Mannucci P.M., Canciani M.T., Forza I., Lussana F., Lanuada A., Rossi E.* Changes in health and disease of metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. Blood. 2001; 98(9); 2730- 5.

ИНИЦИАЦИЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ В РАЗНЫЕ СРОКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Андрей Павлович МОМОТ[1], Ирина Алексеевна ТАРАНЕНКО[1], Дмитрий Евгеньевич БЕЛОЗЕРОВ[2], Людмила Петровна ЦЫВКИНА[1], Наталья Ильинична ФАДЕЕВА[2], Марина Викторовна МЕДВЕДЕВА[3]

[1] *Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России*
656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1
[2]*ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России*
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40
[3]*ООО «Инвитро-Сибирь»*
630000, г. Новосибирск, Красный пр., 218/2

Цель исследования - анализ пусковых механизмов активации свертывания крови на разных сроках физиологически протекающей беременности и оценка возможной роли их нарушений для возникновения репродуктивных потерь и преждевременных родов. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Обследована 301 женщина вне беременности, в различные сроки физиологической беременности и на 2-3-е сутки после самопроизвольных родов. В плазме венозной крови устанавливали содержание тканевого фактора (ТФ), активность ингибитора пути тканевого фактора (ИПТФ), уровень активированного фактора VIIa (ФVIIa), фибринопептида А (ФПА) и D-димеров. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Определены прогрессирующее нарастание содержания ТФ, динамика и интервалы допустимых значений ТФ и ИПТФ, а также их соотношение в разные сроки физиологической беременности ($r = 0,15$; $p < 0,03$). ТФ преобладал над ИПТФ начиная с 12-13 недели, что было наиболее выражено в поздние сроки гестации (34-36 недель). Концентрация ТФ находилась в прямой связи с уровнем ФVIIa ($r = 0,21$; $p < 0,002$), ФПА ($r = 0,23$; $p < 0,001$) и D-димеров ($r = 0,40$; $p < 0,001$), что свидетельствовало об успешной реализации коагуляционного потенциала в крови беременных женщин, не сопровождающейся, однако, развитием клинически значимой сосудистой ишемии. Допускается, что высокий уровень ТФ не только способствует активации гемостаза, но и одновременно выступает инициатором завершения беременности и начала родовой деятельности. Материалы статьи определяют пусковые механизмы нарастающей тромбогенности крови при беременности, а полученные данные могут быть использованы в качестве ориентировочных значений для формирования групп риска по тромботическим и акушерским осложнениям.

Ключевые слова: тканевой фактор, ингибитор тканевого пути свертывания, фактор VIIa, фибринопептид А, D-димеры, физиологически протекающая беременность.

При беременности отмечается повышение коагуляционных свойств крови, направленное, как предполагается, на предупреждение фатального кровотечения в родах [16, 30]. Данный процесс проявляется динамичным увеличением концентрации свидетелей, или маркеров, появления в кровотоке тромбина и активации фибринолиза - фибринопептида А (ФПА), комплекса «тромбин - антитромбин», фрагмента протромбина 1+2 и D-димеров [7]. Увеличение уровня маркеров тромбинемии при течении беременности представляет собой финальный результат взаимодействия и противодействия различных звеньев системы гемостаза, обладающих прокоагуляционной, противосвертывающей и фибринолитической активностью. Важно учитывать и то, что при значительном изменении количества и/или активности многих участников гемостатических реакций этот период жизни женщины, как правило, не сопровождается тромбозом или кровотечениями благодаря формированию особенного варианта

Момот А.П. - д.м.н., проф., директор, e-mail: xyzan@yandex.ru
Тараненко И.А. - к.м.н., научный сотрудник, e-mail: tarania@mail.ru
Белозеров Д.Е. - младший научный сотрудник, e-mail: dmitrbelozerov@yandex.ru
Цывкина Л.П. - д.м.н., проф., старший научный сотрудник, e-mail: katerina-cyvkina@mail.ru
Фадеева Н.И. - д.м.н., проф., директор, e-mail: nat2fad@hotmail.com
Медведева М.В. - врач-лаборант, e-mail: MMedvedeva@sib.invitro.ru

гемостатического баланса [1, 4, 20], свойственного не только состоянию беременности, но и периоду новорожденности [26].

Центральное место в системе гемостаза принадлежит тромбину. Развитие в последние годы клеточной модели свертывания крови «in vivo» определило тканевой фактор (ТФ) как единственный инициатор образования тромбина, попадающий в кровоток при повреждении эндотелия кровеносных сосудов под воздействием провоспалительных цитокинов, эндотоксина, адреналина, гипоксии или значительной кровопотери [17]. ТФ входит в число интегральных мембраносвязанных гликопротеинов и экспрессируется на клетках крови и эндотелии, а также взаимодействует с имеющимся в крови фактором VII (ФVII) с образованием комплекса «ТФ - ФVIIа» (так называемая фаза «инициации» свертывания крови). Данный комплекс способствует образованию в небольших количествах фактора IIа (тромбина). который затем используется для активации тромбоцитов. В течение следующей фазы свертывания крови - «усиления», тромбин приводит к высвобождению фактора Виллебранда из эндотелия кровеносных сосудов и создает условия для образования активированных факторов V, VIII и XI. На следующей стадии в фазе «распространения» различные факторы и ферменты объединяются на поверхности активированных тромбоцитов для образования комплекса теназы и фактора Ха, вслед за чем происходит массированная продукция тромбина - достаточная для превращения фибриногена в фибрин [18, 28].

Описанный выше процесс в случае низкой, в ряде патологических состояний, активности физиологических антикоагулянтов, ограничивающих распространение свертывания крови, способен приводить к массированному фибринообразованию со всеми известными последствиями критической сосудистой ишемии [6, 24].

Процессы активации свертывания крови изучены в большом числе работ, в то же время исследований, посвященных начальным этапам свертывания крови и возможностям мало изученного ингибитора ТФ (ингибитора пути ТФ - ИПТФ, tissue factor pathway inhibitor - TFPI) в сдерживании внутрисосудистого свертывания крови при беременности, крайне мало. Допускается, что избыточная активация на ранних этапах гемокоагуляции может приводить как к тромбозам, так и к клинически значимым осложнениям беременности [14, 15, 29].

Цель настоящей работы заключалась в анализе пусковых механизмов активации свертывания крови на разных сроках физиологически протекающей беременности и оценке возможной роли их нарушений для возникновения репродуктивных потерь и преждевременных родов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В рамках проспективного исследования получены данные о 301 женщине, обследованной в женских консультациях и родильном доме № 2 г. Барнаула. Исследования выполнялись в лаборатории патологии гемостаза КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул) при участии сотрудников Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, лаборатории гематологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России и лаборатории ООО «Инвитро-Сибирь», г. Новосибирск. Представленное исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России (выписка из протокола № 14 от 11.12.2013), все участники дали свое информированное согласие.

С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушером-гинекологом, терапевтом и гематологом, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет. Критерии исключения из исследования, характеристика обследованных женщин и рожденных детей описаны нами ранее [4].

Отобраны следующие контрольные точки для исследования системы гемостаза, учитывающие волны инвазии трофобласта и отражающие «критические» сроки беременности: прегравидарный период, 6-8 недель, 12-13 недель, 22-24 недели, 34-36 недель и 2-3-е сутки после родоразрешения, соответственно 1, 2, 3, 4, 5 и 6 этапы. Все женщины, принятые в исследование, обследовались, как правило, однократно.

Взятие венозной крови осуществлялось из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2 %). Кровь центрифугировали при 1400g в течение 15 мин при комнатной температуре. Перед проведением иммуноферментных анализов плазму хранили при температуре –40 ^{o}C в низкотемпературном холодильнике MDF-192 Ultra low temperature freezer (Sanyo, Япония) от одних суток до одного месяца.

Содержание ТФ, активность ИПТФ, активированного фактора VII (ФVIIа) и концентрация ФПА и

D-димеров в плазме крови изучались с помощью тест-систем соответственно Actichrome® TF, Actichrome® TFPI (Sekisui Diagnostics, American Diagnostica, США), AssaySense Human Factor VII Chromo-genic Activity (AssayPro, США) и IMUCLONE FPA ELISA (Sekisui Medical Co., США) на микропланшетном фотометре BioRad 680 (Bio-Rad Laboratories, США). Уровень D-димеров в плазме крови изучался с помощью тест-системы «Auto Red D-dimer 700» (Helena Bioscience, Германия) на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 (Siemens, Германия).

При выполнении статистического анализа использовался непараметрический критерий Манна - Уитни для двух независимых групп, а также ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Статистически значимыми принимались значения при $p < 0,05$. Для показателей каждого теста на разных этапах обследования были рассчитаны медиана (Me), среднее значение (X) и референтные интервалы (2,5-97,5 ‰).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты, в целом, проявили нарастающую активацию свертывания крови у беременных по мере увеличения сроков гестации, что было продемонстрировано следующими наблюдениями.

Определено увеличение экспрессии ТФ в плазме крови беременных (рис. 1, *а*). Можно видеть, что уровень ТФ у женщин вне беременности и родов находился в достаточно широком диапазоне значений (от 1,54 до 11,12 пмоль/л) и практически не менялся на сроке гестации 6-8 недель (табл. 1). В последующем, по мере прогрессирования беременности, наблюдалось увеличение содержания ТФ от исходного уровня (вне беременности) в 1,26, 2,32 и 2,75 раза (по медиане) на 3, 4 и 5 этапах обследования соответственно. Травма, связанная с родоразрешением, сочеталась с наибольшей концентрацией этого ключевого активатора свертывания крови, достигшей у трех из 44 женщин (в 6,8 % наблюдений) уровня более 200 пмоль/л.

Полученные результаты соответствуют опубликованным ранее данным, согласно которым увеличение коагулирующей активности крови женщин находится на пике своей выраженности в период, близкий к родоразрешению, сопровождающемуся изгнанием плаценты [2, 7, 11]. Как сильный инициатор коагуляции, ТФ быстро приводит к тромбированию сосудов в целях остановки кровотечения у матери в период родов. Это представляется весьма важным,

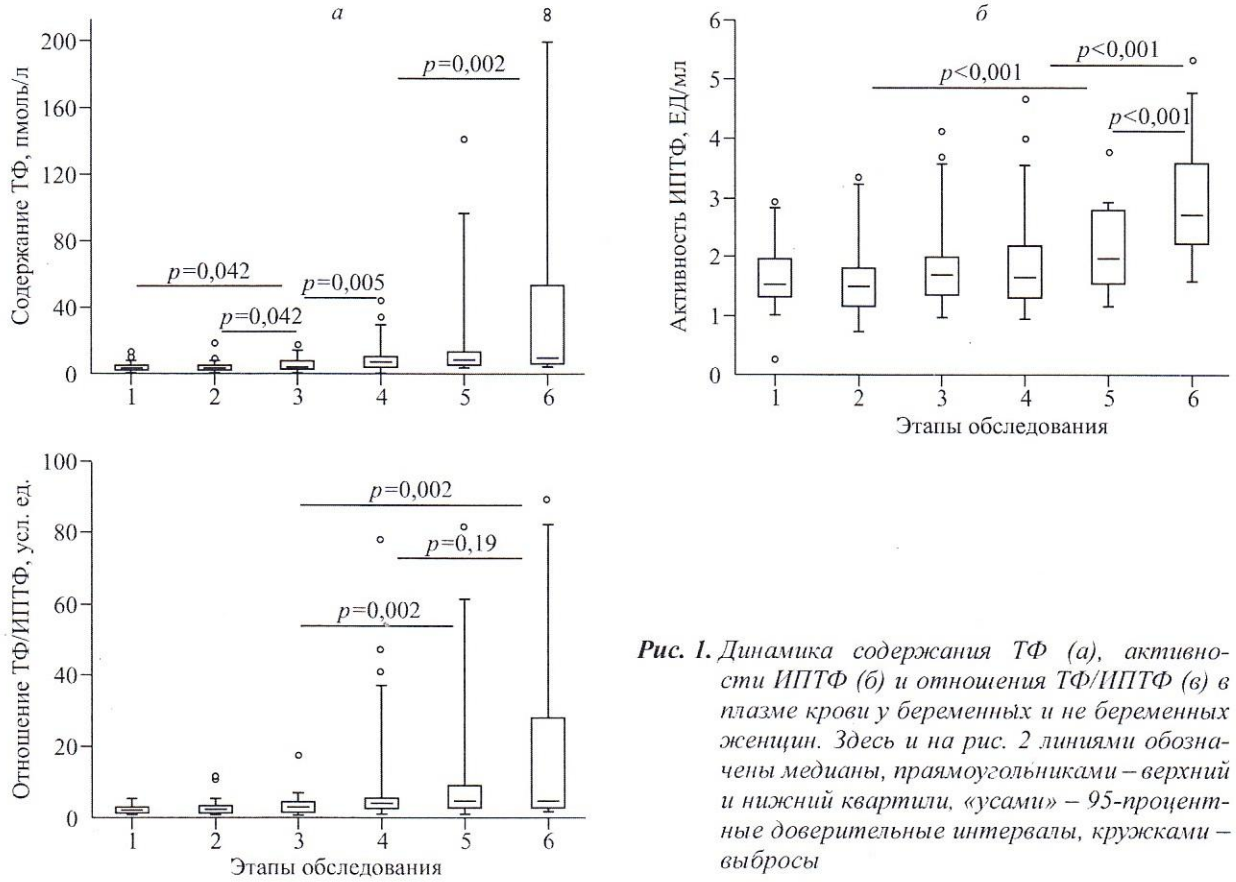


Рис. 1. *Динамика содержания ТФ (а), активности ИПТФ (б) и отношения ТФ/ИПТФ (в) в плазме крови у беременных и не беременных женщин. Здесь и на рис. 2 линиями обозначены медианы, прямоугольниками – верхний и нижний квартили, «усами» – 95-процентные доверительные интервалы, кружками – выбросы*

Таблица 1

Допустимый диапазон значений содержания ТФ в плазме крови (пмоль/л) в разные сроки физиологической беременности

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 %,,)
1	Вне беременности (*n* = 50)	2,88	3,63	1,54–11,12
2	6–8 неделя (*n* = 50)	2,91	3,86	1,36–9,83
3	12–13 неделя (*n* = 41)	3,64	5,44	1,55–13,64
4	22–24 неделя (*n* = 55)	6,69	8,95	2,23–32,53
5	34–36 неделя (*n* = 37)	7,93	17,13	2,75–100,75
6	На 2–3 сутки после родов (*n* = 44)	8,93	44,99	3,96–213,75

Таблица 2

Допустимый диапазон значений активности ИПТФ (ед/мл) в разные сроки физиологической беременности

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	Вне беременности (*n* = 48)	1,58	1,79	1,07–2,99
2	6–8 неделя (*n* = 50)	1,50	1,62	0,75–3,33
3	12–13 неделя (*n* = 43)	1,68	1,80	0,85–3,69
4	22–24 неделя (*n* = 55)	1,66	1,90	0,95–3,84
5	34–36 неделя (*n* = 35)	1,96	2,04	1,13–3,06
6	2–3 сутки после родов (*n* = 45)	2,72	2,95	1,54–5,18

поскольку при плацентарном токе крови 700 мл/мин может произойти сильное кровотечение, если система коагуляции не справится со своей задачей [22].

Учитывая принцип «равновесия и противодействия», касающийся протеолитических систем крови и проявляющийся формированием неактивных комплексов, таких как «тромбин - антитромбин», «плазмин - антиплазмин», «тканевой активатор плазминогена-ингибитор тканевого активатора плазминогена 1 типа» и ряда других, представлялось важным также описание динамики ИПТФ во время беременности. Как известно, ИПТФ относится к ингибиторам протеиназ типа Кунитца и обладает двумя важными доменами - ингибирующим комплекс «ТФ - ФVIIa» и инактивирующим фактор Xa [10]. Он вырабатывается преимущественно эндотелием сосудов легких и плаценты, а 90 % его пула находится в крови в комплексе с липопротеинами низкой и высокой плотности [21]. Для изучения антикоагулянтного действия данного ингибитора в современной практике используют определение общей активности ИПТФ, учитывающей последствия образования и активности поликомпонентного комплекса «ТФ - ФVIIa - ФXa - ИПТФ». Результаты такой оценки в период, предшествующий беременности и в различные ее сроки, приведены на рис. 1, *б*.

В соответствии с полученными результатами активность ИПТФ при беременности возрастала, но менее значительно, по сравнению с темпами увеличения содержания ТФ. Корреляция между ТФ и ИПТФ была сравнительно слабой (r = 0,15, p < 0,03) Умеренный рост активности ИПТФ зафиксирован лишь на 5 и 6 этапах исследования (по медиане соответственно на 24,0 и 72,2 %, в сравнении результатами, полученными до наступления беременности) (табл. 2). Отметим также, что нами не было найдено увеличения активности ИПТФ в плазме крови женщин в первой половине беременности, определенное в работе Sarig G. et al. [27]. Однако приведенные данные соответствуют результатам, опубликованным Uszynski M. et al. [29], которые установили явный рост активности ИПТФ во время родоразрешения и в первые дни после этого события.

Далее была проведена оценка отношения содержания ТФ и активности его антагониста ИПТФ (рис. 1, *в*), показавшая его увеличение начиная со второй половины беременности, что наиболее явно проявило себя вскоре после родов. В частности, исследуемое отношение повышалось относительно исходного (до наступления беременности)

Таблица 3

Отношение ТФ/ИПТФ в разные сроки физиологической беременности

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	Вне беременности (*n* = 45)	1,96	2,37	0,75–7,77
2	6–8 неделя (*n* = 47)	1,94	2,67	0,81–10,01
3	12–13 неделя (*n* = 40)	2,75	3,51	0,79–7,60
4	22–24 неделя (*n* = 54)	3,90	7,01	1,15–42,91
5	34–36 неделя (*n* = 35)	4,45	12,05	1,31–64,16
6	2–3 сутки после родов (*n* = 41)	4,52	19,85	1,52–88,97

в 1,40, 1,99, 2,27 и 2,31 раза (по медиане) и в 1,48, 2,96, 5,08 и 8,37 раза (по среднему арифметическому) соответственно на 3, 4, 5 и 6 этапах обследования (табл. 3).

Учитывая выше изложенное, можно было бы ожидать схожей динамики продукции ФVIIa. Действительно, в наших наблюдениях активация этого ключевого фактора свертывания крови имела место, но неожиданным явилось то, она опережала события и с 3-го этапа исследований имела максимальные значения по сравнению с данными всего периода исследований (рис. 2, *а*). На 12–13 неделе беременности активность ФVIIa скачкообразно увеличивалась (по медиане на 41,1 % по сравнению со значением до беременности) и оставалась на стабильно высоком уровне вплоть до родоразрешения. Коэффициент корреляции Спирмена, рассчитанный по первым пяти этапам обследования, между содержанием ТФ и активностью ФVIIa составил 0,21 ($p < 0{,}002$).

Главным следствием инициации свертывания крови считается образование фактора IIa (тромбина) - фермента, обладающего широким спектром действия, но прежде всего - осуществляющего превращение фибриногена в фибрин. Измерить количество тромбина в крови не представляется возможным, поскольку время его активной жизни составляет от нескольких секунд

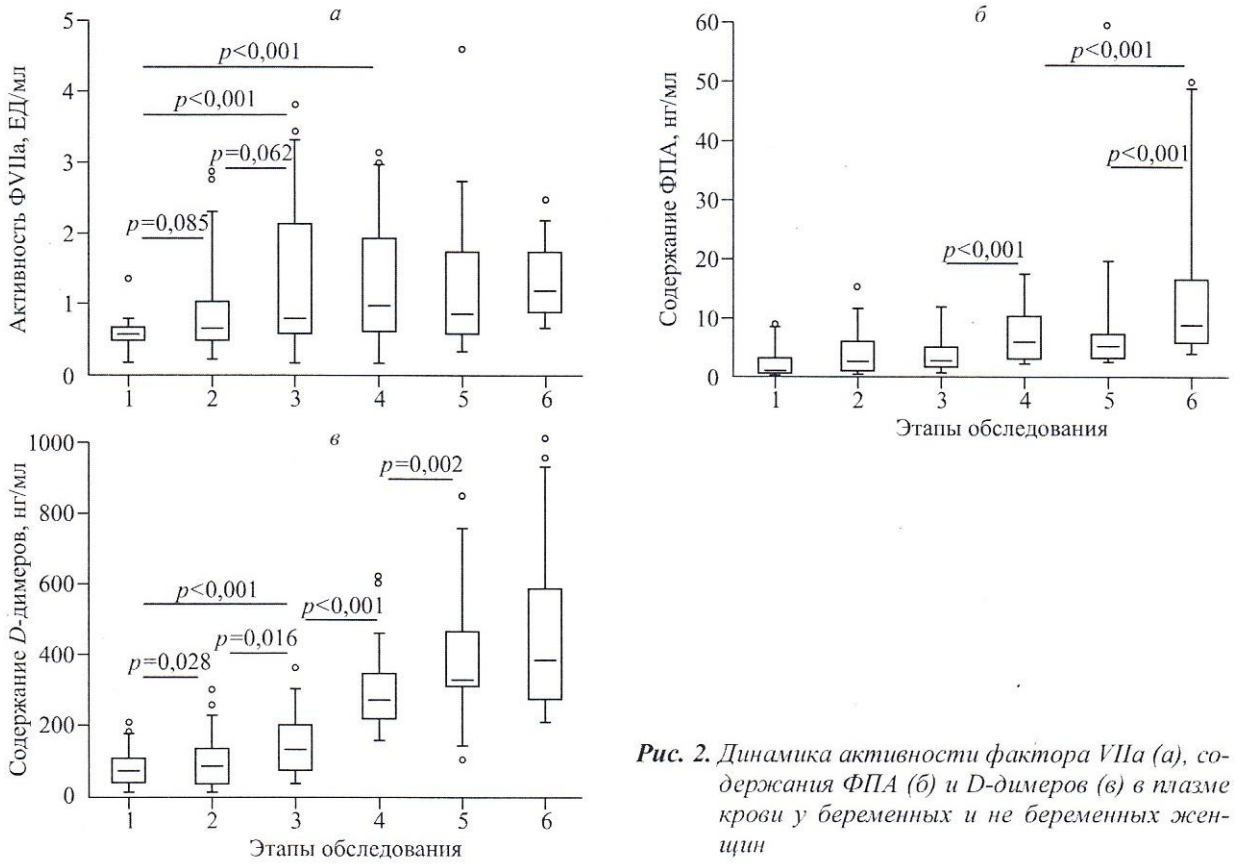


***Рис. 2.** Динамика активности фактора VIIa (а), содержания ФПА (б) и D-димеров (в) в плазме крови у беременных и не беременных женщин*

до нескольких минут вследствие связывания с антитромбином III и тромбомодулином. В этих целях обычно определяют некоторые свидетели присутствия тромбина в кровотоке [5], в настоящем исследовании были изучены два из них - ФПА и D-димеры. ФПА представляет собой пептид с молекулярной массой 1536 Да, состоящий из 16 аминокислотных остатков N-концевого участка Aα-цепи фибриногена и образующийся при протеолитическом действии тромбина. Он относится к прямым, коротко живущим маркерам тромбинемии [9].

В наших исследованиях уровень ФПА имел тенденцию к росту наряду с увеличением сроков гестации, о чем свидетельствуют данные, приведенные на рис. 2, *б*. При этом очевидно, что увеличение концентрации ФПА наблюдалось уже с 6-8 недель беременности (по медиане в 2,1 раза) и было достоверно значимым начиная с 4 этапа исследований (22-24 недели). Максимальный уровень ФПА совпадал по времени с первыми днями после родоразрешениея и превышал (по медиане) исходные значения до беременности в 6,4 раза. В дополнение к этому отметим наличие корреляционной связи между содержанием в плазме крови ФПА и ТФ (r = 0,23; p < 0,001), ФПА и ФVIIa (r = 0,32; p < 0,001), ФПА и соотношением ТФ/ИПТФ (r = 0,19; p = 0,02).

К другим высоко информативным маркерам тромбинемии, как известно, относятся D-димеры. Увеличение содержания D-димеров во время беременности, как считается, может отражать повышенную активацию коагуляции и тромбинообразования, повышенный фибринолиз или сочетание того и другого. Сегодня тестирование на D-димеры во время беременности достаточно широко рекомендуется для диагностики и прогнозирования венозных тромбоэмболических осложнений или связанных с беременностью осложнений, а также для мониторинга антитромботической терапии [3, 7, 13]. По результатам проведенных исследований установлено нарастание данного маркера при увеличении сроков беременности и этот рост был наиболее динамичен в сравнении с другими показателями свертываемости крови, изученными в настоящей работе (рис. 2, *в*). В частности, зафиксировано увеличение данных (по медиане) на 6-8 неделе беременности на 18 %, на 12-13 неделе - на 86 %, на 22-24 неделе - в 3,84 раза и в конце срока вынашивания беременности - в 4,68 раза. Эти результаты близки к имеющимся в литературе. В соответствии с данными Kline J. et al. [23], уровень D-димеров возрастает по срокам гестации и ко времени родоразрешения может превышать обычный, определяемый вне беременности, в 3-4 раза. Однако в рамках проведенного исследования нас прежде всего интересовала связь между реакциями инициации свертывания крови и свершившимися событиями образования фибрина. Согласно проведенному анализу установлена корреляционная связь между концентрацией D-димеров и ТФ (r = 0,40; p < 0,001), D-димеров и ФVIIa (r = 0,22; p = 0,001), D-димеров и соотношением ТФ/ИПТФ (r = 0,25; p < 0,001).

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе установлен значительный рост содержания ТФ при приближении к срокам родоразрешения, хотя достоверно значимое увеличение этого показателя было зафиксировано уже с 12-13 недели беременности. Целесообразность такого раннего повышения концентрации ТФ не вполне понятна, поскольку роды и, соответственно, ограничение объема кровопотери в первой половине беременности не запрограммированы природой. С другой стороны, трудно допустить, что резкое, скачкообразное повышение тромбогенности крови перед родами может обойтись без системных и фатальных проявлений сосудистой ишемии. Как известно, ТФ входит в число интегральных мембраносвязанных гликопротеинов клеток эндотелия и лейкоцитов. Он является важным кофактором факторов VII и VIIa, инициирует свою прокоагулянтную активность на поверхности клеток и попадает в кровоток обычно при повреждении эндотелия кровеносных сосудов и при стимуляции лейкоцитов под воздействием провоспалительных цитокинов, эндотоксина, адреналина, гипоксии и/или значительной кровопотери.

Комплекс «ТФ - ФVIIa» способен активировать как фактор X, так и фактор IX, приводя к реализации известных механизмов свертывания крови [12]. Установлено, что по сравнению с показателями при физиологически протекающей беременности концентрация ТФ обычно выше в плазме крови матерей с преэклампсией или в случае раннего излития околоплодных вод, но ниже при рождении ребенка с недостаточной массой для данного гестационного возраста, что косвенно может свидетельствовать о его преимущественно плацентарном происхождении [15, 25]. Как отмечалось ранее, в противовес ТФ выступает его ингибитор ИПТФ, синтез которого способен увеличиваться в 5-10 раз эндотелием кровеносных сосудов на фоне приема низкомолекулярных гепаринов [19]. В нашем исследовании ТФ явно преобладал над ИПТФ начиная с 22-24 недели физиологически протекающей беременности. В дополнение к сказанному отметим, что согласно имеющимся

данным активность ИПТФ в плазме крови беременных женщин повышена при преэклампсии (относительно допустимых значений при физиологической беременности), но снижена при преждевременных родах, раннем излитии околоплодных вод и не меняется у женщин с гипотрофией новорожденного ребенка [8, 14, 15]. Наконец, увеличение содержания ТФ соответственно сроку гестации при одновременно сниженной активности ИПТФ связывается как с усиленной генерацией тромбина, так и высокой вероятностью преждевременных родов [15]. Эти данные и послужили основанием для проведения в настоящей работе расчетов соотношения содержания ТФ и активности ИПТФ в системном кровотоке, которое возрастало пропорционально гестации, очерчивая границы уникального гемостатического баланса на разных сроках беременности.

Важно подчеркнуть, что в предродовый период срочных родов максимально выраженная секреция ТФ в сравнении с активностью его ингибитора, несмотря на прогрессирующее увеличение активности ФVIIa и содержания маркеров тромбинемии ФПА и D-димеров, не приводит к патологическому фибринообразованию, опасному для жизни матери и ребенка, однако эти изменения эффективно контролируют объем материнской кровопотери в родах.

Можно полагать, что высокий уровень ТФ, сопровождающийся нарастанием концентрации известных маркеров тромбинемии, выступает инициатором не только внутрисосудистого свертывания крови, но и завершения беременности, а также начала родовой деятельности. Доказав это положение, исследователи, наряду с учетом данных многочисленных публикаций о связи нарушений в системе свертывания крови с бесплодием и осложнениями беременности (ранних выкидышей, синдрома задержки внутриутробного роста плода, преэклампсии, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, тромбозов, антенатальной гибели плода, преждевременных родов, мертворождения), смогут охарактеризовать важную в числе классических, ранее не выделявшуюся репродуктивную функцию системы гемостаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные определяют пусковые механизмы нарастающей тромбогенности крови при прогрессировании беременности и могут быть использованы в качестве ориентировочных значений для формирования групп риска по тромботическим и акушерским осложнениям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бицадзе В.О., Макацария А.Д., Хизроева Д.Х. и др.* Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности // Практич. мед. 2012. (5). 22-29.

2. *Бышевский А.Ш., Полякова В.А., Рудзе вич А.Ю.* Гемостаз при физиологической беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклампсией // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. 4. (44). 13-30.

3. *Гильманов А.Ж.* D-димер: Что? Как? У кого? С какой целью? // Клинич. лабораторн. консилиум. 2009. 6. (31). 38-46.

4. *Момот А.П., Кирющенков П.А., Трухина Д.А. и др.* Референтные значения уровня и активности фактора Виллебранда, металлопротеиназы ADAMTS-13, активности тромбоцитов при физиологически протекающей беременности // Акушерство и гинекология. 2014. (2). 46-52.

5. *Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. и др.* Современные методы распознавания состояния тромботической готовности: монография / Ред. А.П. Момот. Барнаул: Изд-во АГУ, 2011. 138 с.

6. *Шойхет Я.Н., Момот А.П., Елыкомов В.А.* К обоснованию новой технологии негепаринового усиления антикоагулянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемокомпонентной терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Пробл. клинич. мед. 2008. (5-6). 130-144.

7. *Abbassi-Ghanavati M., Greer L.G., Cunningham F.G.* Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians // Obstet. Gynecol. 2009. 114. 1326–1331.

8. *Abdel Gader A.M., Al-Mishari A.A., Awa dalla S.A. et al.* Total and free tissue factor pathway inhibitor in pregnancy hypertension // Int. J. Gynaecol. Obstet. 2006. 95. 248-253.

9. *Amiral J., Walenga, J.M., Fareed J.* Development and performarnance characteristics of a competitive enzyme immunoassay for fibrinopeptide A // Semin. Thromb. Hemost. 1984. 10. 228-242.

10. *Broze G.J. Jr, Girard T.J., Novotny W.F.* Regulation of coagulation by a multivalent Kunitz-type inhibitor // Biochemistry. 1990. 29. 7539-7546.

11. *Carson S.D., Ramsey C.A.* Tissue factor (coagulation factor III) is present in placental microvilli and cofractionates with microvilli membrane proteins // Placenta. 1985. 6. (1). 5-12.

12. *Edgington T.S., Mackman N., Brand K. et al.* The structural biology of expression and function of tissue factor // Thromb. Haemost. 1991. 66. (1). 67–79.

13. *Eichinger S.* D-Dimer testing in pregnancy // Pathophysiol. Haemost. Thromb. 2003/2004. 33. 327–329.

Фибринолитическая активность крови на разных сроках физиологически протекающей беременности

А. П. Момот, д.м.н., проф.,[1,2]; **И. А. Тараненко,** к.м.н.[1,2]; **Л. П. Цывкина,** д.м.н., проф.[1,2]; **Н. И. Фадеева,** д.м.н., проф.[2]; **Г. В. Сердюк,** д.м.н.[1,2]; **И. Ю. Кудинова**[3], **М. В. Медведева**[4]

[1]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

[2]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» (АГМУ) Минздрава России, г. Барнаул

[3]КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул

[4]ООО «Инвитро-Сибирь», г. Новосибирск

Blood fibrinolytic activity at different stages of physiological pregnancy

A. P. Momot[1,2], I. A. Taranenko[1,2], L. P. Tsyvkina[1,2], N. I. Fadeyeva[2], G. V. Serdyuk[1,2], I. Y. Kudinova[3], M. V. Medvedeva[4]

[1]Altai's Branch of Hematology Research Centre, Barnaul, Russia

[2]Altai State Medical University, Barnaul, Russia

[3]Regional (Krai) Clinical Hospital, Barnaul, Russia

[4]Invitro-Siberia Co., Novosibirsk, Russia



А. П. Момот

Резюме

Учитывая высокую значимость фибринолитической активности крови для успешного течения беременности и родов, приводятся допустимые диапазоны значений уровней плазминогена, тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена первого типа в различные сроки гестации. Приведенные расчеты могут быть использованы в качестве ориентировочных при исследовании системы гемостаза у беременных женщин и формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам.

Ключевые слова: ***фибринолиз, тканевой активатор плазминогена, ингибитор активатора плазминогена первого типа, физиологически протекающая беременность.***

Summary

Taking into consideration high importance of blood fibrinolytic activity for successful pregnancy and delivery, allowable values of levels of plasminogen, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 at different stages of gestation are provided. These calculations may be used as indicative in a study of hemostatic system in pregnant women and in a formation of groups at risk for bleeding and thrombosis.

Key words: ***fibrinolysis, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type 1, physiological pregnancy.***

Беременность связывается с глубокой физиологической перестройкой функционирования многих органов и систем. Это проявляет себя и в локальных, и системных изменениях гемостатического и фибринолитического потенциалов крови, протромбогенных эффектах эндотелия кровеносных сосудов [1-3]. Фибринолитическая активность крови, противопоставляемая в ряде авторитетных источников системе гемостаза, в силу методических сложностей ее анализа остаётся недооцененной для клинической практики, а беременность тем более скрывает этот важнейший механизм поддержания жидкого состояния крови от внимания исследователей. Тем не менее проблемы фибринолиза при беременности, в родах и в послеродовом периоде ассоциируются со значительной заболеваемостью и смертностью для матери и плода [4-8], что предопределяет актуальность дальнейших исследований в данной области.

Совершенствование технологий лабораторной оценки отдельных участников системы фибринолиза позволило обеспечить достаточно глубокую и точную характеристику фибринолитического потенциала крови и сосудистой стенки, дистанцируясь от различных вариантов оценки так называемого «времени лизиса сгустка» и малоинформативной регистрации полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена первого типа (PAI-1, генотип 4G/5G) с переходом на аналитические измерения таких важных компонентов изучаемой системы, как уровень плазминогена, количество и активность тканевого активатора плазминогена (t-PA), урокиназного активатора плазминогена (u-PA), ингибиторов активатора плазминогена первого и второго типов (PAI-1 и PAI-2), a_2-антиплазмина, а также тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (TAFI), каждый из которых имеет самостоятельное значение в реализации событий, предшествующих растворению фибрина. Можно констатировать и то, что, несмотря на имеющиеся публикации,

касающиеся нормативных значений показателей системы фибринолиза при физиологической беременности [3, 9, 10], данных в этой области крайне мало.

Цель настоящей работы заключалась в определении динамики изменений и референтных значений ряда ведущих показателей фибринолиза (плазминогена, t-PA и PAI-1) в различные сроки физиологически протекающей беременности и в первые дни после родоразрешения.

В рамках проспективного исследования были получены данные о 301 женщине, обследованной в женских консультациях и родильном доме № 2 г. Барнаула. Исследования выполнялись в лаборатории патологии гемостаза краевой клинической больницы (г. Барнаул) при участии сотрудников Алтайского филиала Гематологического научного центра (г. Барнаул), лаборатории гематологии ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул) и лаборатории ООО «Инвитро-Сибирь» (г. Новосибирск). Представленное исследование было одобрено локальным этическим комитетом АГМУ (выписка из протокола № 14 от 11.12.2013), и все участники дали свое информированное согласие.

С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушером-гинекологом, терапевтом и гематологом, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет. Критерии включения и исключения из исследования, характеристика обследованных женщин и рожденных детей при настоящей беременности были приведены в недавно опубликованных нами работах [1, 11].

Выбраны следующие контрольные этапы для исследования системы гемостаза, учитывающие «критические» сроки беременности: прегравидарный период, 6-8 недель, 12-13 недель, 22-24 недели, 34-36 недель и 2-3-е сутки после родоразрешения. Все женщины, принятые в исследование, обследовались, как правило, однократно.

Таблица 1
Результаты оценки уровня плазминогена в плазме крови в процентах

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	До беременности (n = 48)	98,50	99,48	83,00-120,00
2	6-8 неделя (n = 50)	111,00	111,70	87,00-140,00
3	12-13 неделя (n = 38)	154,50	151,48	107,55-177,08
4	22-24 неделя (n = 52)	155,50	156,63	132,80-185,45
5	34-36 неделя (n = 37)	166,00	165,00	142,60-193,60
6	На 2-3 сутки после родов (n = 46)	136,50	137,48	110,13-164,88

Техника лабораторного обследования. Взятие венозной крови осуществлялось из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2 %). Кровь центрифугировали при 1 400 g в течение 15 минут при комнатной температуре. Перед проведением иммуноферментных анализов плазму хранили при температуре -40 °C в низкотемпературном холодильнике MDF-192 Ultralow Temperature Freezer (Sanyo) от одних суток до одного месяца.

Содержание плазминогена в плазме крови определяли амидолитически с помощью набора реагентов «ХромоТех-Плазминоген» (фирмы «Технология-Стандарт») на спектрофотометре Photometr 5010 v5+ (Robert Riele GmbH & Co., KG). При оценке уровней антигена тканевого активатора плазминогена (t-PA) и ингибитора активатора плазминогена первого типа (PAI 1), применялись наборы реагентов для иммуноферментных исследований фирмы Technoclone GmbH, соответственно, t-PA Combi Actibind ELISA и TECHNOZYM® PAI-1 Actibind® ELISA. Данные тесты выполнялись с помощью фотометра Bio-Rad 680 (Bio-Rad Laboratories). Исследования проводились в соответствии с рядом известных руководств и рекомендаций в области лабораторной диагностики нарушений гемостаза [12, 13].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel 2003, Statistica 6.1. Использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для двух независимых групп. Статистически значимыми принимались различия $p < 0,05$. Для показателей каждого теста на разных этапах обследования были рассчитаны: медиана (Me), среднее значение (X) и референтные интервалы (2,5–97,5 ‰). На рисунках представлены 95 % допустимые интервалы значений
(ДИ 95 %).

Результаты и обсуждение

По итогам проведенного исследования уровень плазминогена значительно увеличивался по мере течения беременности, а прирост (по медиане, в сравнении с данными до беременности) составил 12,6; 56,3; 57,9 и 68,5 процентов соответственно на втором, третьем, четвертом и пятом этапах (табл. 1).

Можно видеть также, что вслед за повышением умеренное снижение концентрации плазминогена произошло в первые дни после родоразрешения (на 17,8 %) в сравнении с данными, полученными на 34-36 неделе беременности.

Найденные в работе динамические изменения уровня плазминогена отражены на рис. 1, в соответствии с которым достоверно значимые изменения наблюдались уже в ранние сроки беременности (6-8 недель), а с 12-13 недели изучаемый показатель был максимально выраженным вплоть до 34-36 недели.

Интересно, что данный параметр фибринолитической системы крови отсутствует в справочной табли-

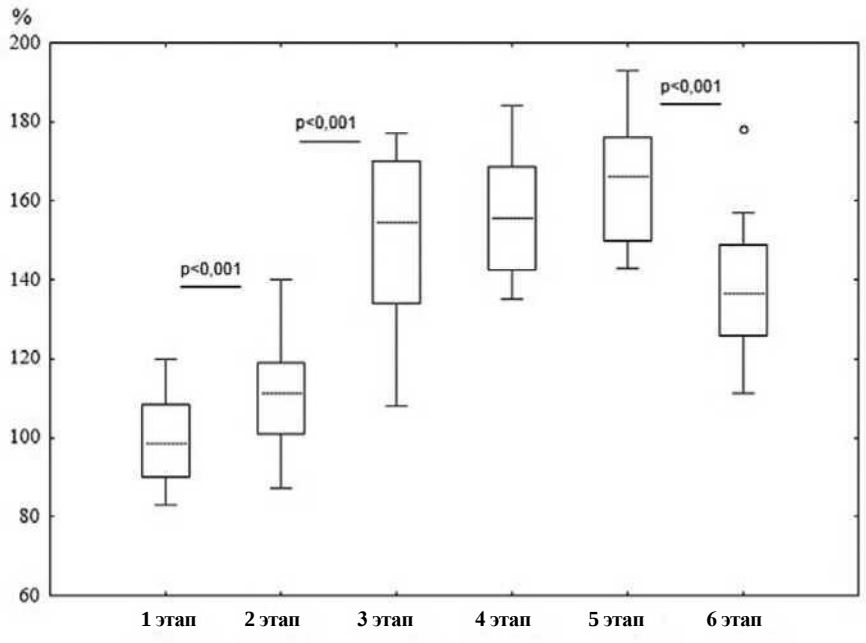


Рисунок 1. Динамика концентрации плазминогена в плазме крови при беременности.

це для клиницистов, опубликованной *Abbassi-Ghanavati M. et al.* [3]. *Kruithof E. K. et al.* [14], измеряя плазминоген методом ракетного иммуноэлектрофореза, не нашли существенных отличий у беременных и небеременных женщин. Однако в более поздних работах увеличение концентрации плазминогена при беременности, отмеченное нами, также описывалось рядом авторов [15, 16].

Увеличение уровня плазминогена во время беременности, по литературным данным, ассоциируется с нарастанием концентрации фибриногена и замедленной секрецией эндотелием кровеносных сосудов [17, 18]. В работе *Uchikova E. H. et al.* [16] отмечается, что положительная динамика концентрации плазминогена связана как с гиперпродукцией данного профермента, так и со сниженным его использованием при физиологической беременности. Эти же авторы полагают, что такое изменение уровня плазминогена может рассматриваться и как защитная реакция, снижающая вероятность внутрисосудистого тромбообразования. Возвращаясь к полученным данным, обращает на себя внимание также относительное, но достоверно выраженное снижение концентрации плазминогена в первые 2-3 дня после родоразрешения. Учитывая, что плазминоген имеет сродство к фибрину, в толще которого он активируется [19], этот факт хорошо объясним, учитывая интенсивное фибринообразование в травмированных в родах кровеносных сосудах. Во всяком случае, имеются сообщения о принципиальной связи венозного тромбоза с уменьшением концентрации плазминогена в кровотоке [20, 21].

Как известно, для реализации своего назначения плазминогену необходимо трансформироваться в активную форму молекулы — плазмин. В число основных активаторов плазминогена входит t-PA, имеющий эндотелиальное происхождение и секретирующийся в кровоток при воздействии известных стимулов, таких как десмопрессин, венозная окклюзия (в том числе при проведении «манжеточной» пробы) или физической нагрузки [19, 22, 23]. Данный активатор уникален, поскольку его действие высокоспецифично по отношению к фибрину. Так, трансформация плазминогена в плазмин под воздействием t-PA, но в отсутствие фибрина, идет крайне медленно и только на фибрине t-PA обеспечивает превращение Glu-плазминогена в протеолитиче- ски активный плазмин [19, 24].

В соответствии с полученными в настоящей работе данными, уровень t-PA имел умеренную тенденцию к увеличению на протяжении течения всей беременности (табл. 2).

По результатам расчетов уровень t-PA на втором этапе исследования повысился на 14,7 %, далее прирост составил 40,0 % на третьем, 58,9 % на четвертом и 97,7 % на пятом этапах (в сравнении с данными, полученными в прегравидарном периоде), что, однако, не было статистически значимым.

В работах ряда авторов также сообщается об умеренном увеличении уровня t-PA в плазме крови беременных женщин без какой-либо выявленной патологии [25, 26]. Снижение уровня и активности t-PA обычно связывается как с повышенным риском тромбозов [22, 27], так и с осложнениями течения беременности [28]. В частности, установлено, что уровень t-PA при синдроме потери плода в первом триместре в два раза ниже, чем в эти же сроки физиологически протекающей беременности [29]. В другой работе снижение t-PA ассоциировалось с задержкой внутриутробного развития и преэкламсией [30].

Таблица 2

Результаты оценки уровня тканевого активатора плазминогена (t-PA), нг/мл

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референсный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	До беременности (n = 48)	5,23	6,21	1,09-14,86
2	6-8 неделя (n = 49)	6,00	6,04	0,98-15,00
3	12-13 неделя (n = 41)	7,31	8,42	0,87-20,27
4	22-24 неделя (n = 54)	8,30	8,83	2,24-25,14
5	34-36 неделя (n = 37)	10,34	10,21	1,86-26,31
6	На 2-3 сутки после родов (n = 43)	7,59	8,18	1,84-19,14

К числу основных ингибиторов t-PA относится PAI-1 [24, 31]. Как и t-PA данный ингибитор продуцируется эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, гепатоцитами, моноцитами, макрофагами, фибробластами, мышечными клетками и относится к семейству серпинов. PAI-1 проникает в сгустки фибрина в концентрации, в 500 раз превышающей его уровень в плазме крови, что приводит к стабилизации тромба и увеличивает его резистентность к разрушению [24, 32].

В соответствии с полученными нами данными, уровень PAI-1 во время физиологической беременности (вплоть до 12-13 недель гестации) находился в пределах колебаний значений этого показателя у небеременных женщин. Однако в последующем, во второй половине беременности, отмечался «взрывной» рост концентрации PAI-1 в 1,5 и 5,0 раза (по медиане, от исходного уровня, соответственно на четвертом и пятом этапах исследования) (табл. 3).

После родоразрешения уровень этого ингибитора вернулся к исходным (до беременности) данным, достоверно снизившись (по медиане) на 82 % в сравнении с данными на 34–36 неделях беременности (рис. 2).

Приведенные результаты вполне согласуются с имеющимися в литературе данными об увеличении уровня PAI-1 на поздних стадиях беременности [25, 33]. Важно отметить, что ряд исследователей обнаруживали более раннее по срокам беременности нарастание концентрации PAI-1 при таких осложнениях гестации, как преэклампсия и задержка внутриутробного развития плода [33, 34]. Можно учесть и интересную информацию *Е. Ю. Ишутиной* [29], в соответствии с которой показано превышение уровня PAI-1 над уровнем t-PA при привычном невынашивании в первом триместре беременности (в сравнении с физиологической нормой), что позволило автору рассматривать увеличение уровня PAI-1 и снижение уровня t-PA в качестве маркерных сдвигов, отражающих степень эндотелиопатии в рассмотренных клинических случаях.

Таблица 3
Допустимый диапазон значений уровня PAI-1, ед/мл

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	До беременности (n = 48)	3,01	3,87	2,32-10,96
2	6-8 неделя (n = 50)	2,84	3,27	2,33-7,20
3	12-13 неделя (n = 42)	2,99	3,55	2,54-8,59
4	22-24 неделя (n = 57)	4,54	6,05	2,77-14,10
5	34-36 неделя (n = 37)	15,26	19,44	2,95-54,86
6	На 2-3 сутки после родов (n = 46)	2,74	3,14	2,27-6,37

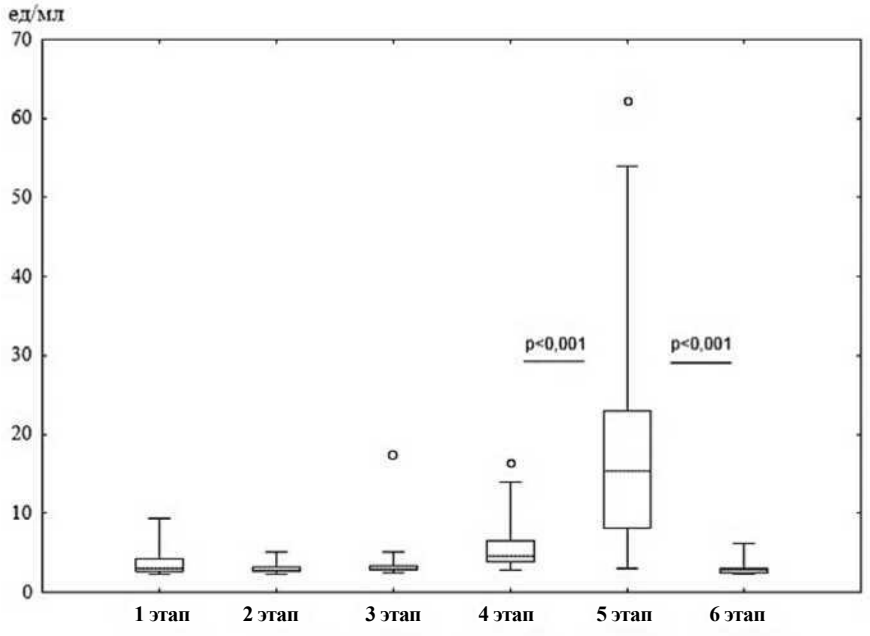


Рисунок 2. Динамика уровня PAI-1 в плазме крови при беременности.

Таблица 4
Медиана и допустимый диапазон значений отношения t-PA к PAI-1

Этап обследования	Срок беременности	Me	X	Референтный интервал (2,5 и 97,5 ‰)
1	Вне беременности (n = 43)	1,54	1,81	0,17-4,98
2	6-8 неделя (n = 48)	1,60	2,01	0,30-5,48
3	12-13 неделя (n = 40)	2,49	2,63	0,31-7,15
4	22-24 неделя (n = 52)	1,53	1,76	0,51-5,30
5	34-36 неделя (n = 35)	0,53	0,89	0,07-3,26
6	На 2-3 сутки после родов (n = 42)	2,66	2,91	0,67-7,03

Для визуализации этих и полученных в настоящей работе данных был проведен расчет отношения уровней t-PA к PAI-1 в разные сроки физиологически протекающей беременности (табл. 4). Это отношение резко снижалось в период времени, начиная с 22-24 недели вплоть до окончания срока беременности.

На рис. 3 отображена динамика изменения отношения t-PA к PAI-1 и достоверности различий между отдельными этапами предпринятого исследования.

Полученные данные косвенно свидетельствуют о снижении, несмотря на гиперплазминогенемию, пристеночных реакций фибринолиза

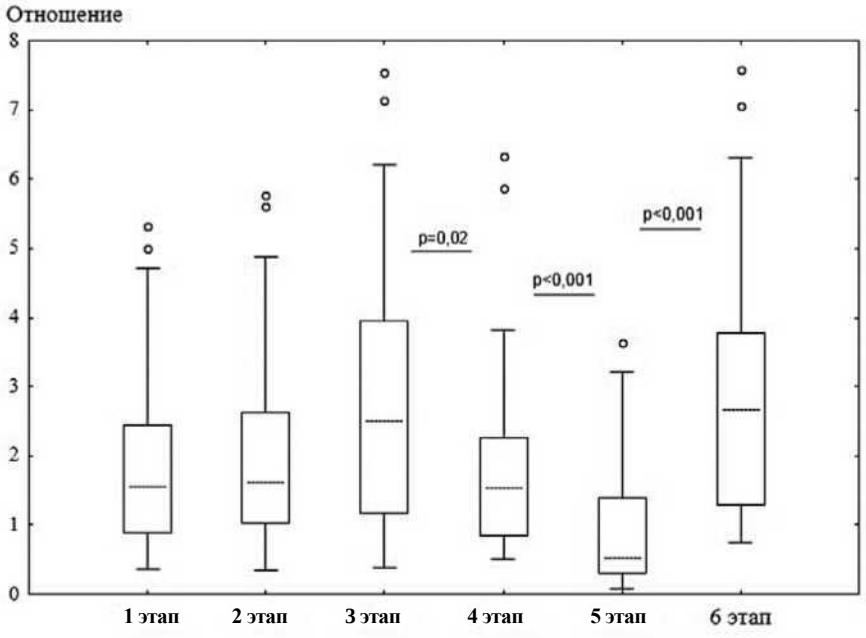


Рисунок 3. Динамика отношения t-PA к PAI-1 при беременности.

в период перед родоразрешением, что должно учитываться при принятии решения о применении такого системного гемостатического препарата, как транексамовая кислота, уменьшающего кровотечение в родах, но способного вызвать окклюзию почечных артерий или системный тромбоз [35]. Как известно, данный препарат по механизму действия является аналогом PAI-1, блокирующим лизин-связывающие участки в плазминогене, в связи с чем последний не способен взаимодействовать с фибрином. По этой причине плазминоген не может активироваться при посредстве t-PA в активный плазмин [36].

Заключение

В настоящем исследовании оценена динамика уровня ряда известных участников фибринолитических реакций в разные сроки физиологически протекающей беременности, определены допустимые интервалы значений концентрации плазминогена, t-PA и его ингибитора PAI-1. В ходе работы выявлен феномен гиперплазминогенемии, усиливающийся по мере приближения к срокам родоразрешения. В это же время отмечено и преобладание уровня PAI-1 над уровнем t-PA, что свидетельствовало в целом об ингибировании пристеночных фибринолитических реакций перед родами.

Представленная информация может быть полезна для лучшего понимания механизмов уникального гемостатического баланса во время беременности, а приведенные расчеты могут быть использованы в качестве ориентировочных при исследования системы гемостаза у беременных женщин и формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам.

Отметим также, что в работе были изучены и другие участники и продукты фибринолитических реакций: урокиназный активатор плазминогена (u-PA), a_2-антиплазмин, тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (TAFI) и D-димеры. Эти материалы будут включены в последующие публикации в рамках поднятой темы.

Список литературы

1. *Момот, А. П. Особенности сосуди сто-тромбоцитарного гемостаза на разных сроках физиологической беременности. // А. П. Момот, И. А. Тараненко, Д. А. Трухина, В. В. Романов. // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.— 2014.— Т. 1.— № 2.— С. 27-31.*
2. *Бышевский, А. Ш. Гемостаз при физиологической беременности, беременности с артериальной гипертензией и преэклампсией. // А. Ш. Бышевский, В. А. Полякова, А. Ю. Рудзевич. // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2010.— № 4 (44).— С. 13-30.*
3. *Abbassi-Ghanavati, M. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. // M. Abbassi-Ghanavati, L. G. Greer, F. G. Cunningham. // Obstet Gynecol. — 2009 Dec.— Vol. 114, № 6. — P. 1326-1331.*
4. *Бицадзе, В. О. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности / В. О. Бицадзе, А. Д. Макацария, Д. Х. Хизроева и др. // Практическая медицина.— 2012.— № 5.— С. 22-29.*
5. *Момот, А. П. Фармакотерапия массивных акушерских кровотечений. // А. П. Момот, И. В. Молчанова, В. Б. Цхай // Акушерство и гинекология.— 2010.— № 4.— С. 3-10.*
6. *Brenner, B. Haemostatic changes in pregnancy. // B. Brenner// Thromb Res.—2004.— Vol. 114, № 5-6.— P. 409-414.*
7. *O'Riordan, M. N. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. // M.N. O'Riordan, J. R. Higgins // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.— 2003.— Vol. 17, № 3.— P. 385-396.*
8. *Franchini, M. Haemostasis and pregnancy. // M. Franchini // Thromb Haemost.— 2006.— Vol. 95, № 3.— P. 401-413.*
9. *Klajnbard, A. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period / A. Klajnbard, P. B. Szecsi, N. P. Colov et al. // Clin. Chem. Lab. Med.— 2010 Feb.— Vol. 48, № 2.— P. 237-248.*
10. *Ramsay, M. Normal hematological changes during pregnancy and the puerperium. // M. Ramsay // The Obstetric Hematology Manual // Ed. by S. Pavord, B. Hunt.— New York: Cambridge University Press, 2010.— P. 3-12.*
11. *Момот, А. П. Референтные значения уровня и активности фактора Виллебранда, металлопротеиназы ADAMTS-13, активности тромбоцитов при физиологически протекающей беременности. //А. П. Момот, П. А. Кирющенков, Д. А. Трухина и др. // Акушерство и гинекология. 2014.— № 2.— С. 46-52.*
12. *Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза: монография. // З. С. Баркаган, А. П. Момот — Издание 3-е. М.: Изд-во Ньюдиамед, 2008.— 292 С.*

Момот А.П. [1,2], Белозеров Д. Е.[2], Цывкина Л. П. [1,2], Тугов А. А. [3]

[1] *Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул;*

[2] *ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул;*

[3] *ООО «Инвитро-Сибирь», г. Новосибирск.*

РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ УРОВНЯ D-ДИМЕРОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ В РАЗНЫЕ СРОКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ПРОТЕКАЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Введение. Нарастание уровня маркеров активации свертывания крови и фибринолиза, таких как D-димеры, обычно связано с увеличением активности тромбина и повышенным фибринолизом ввиду образования стабилизированного фибрина. Следовательно, тестирование на D-димеры может быть полезным не только для диагностики и прогноза возникновения венозных тромбоэмболических осложнений, но и в случаях оценки необходимости назначения и мониторинга антитромботической профилактики и терапии. При беременности данный диагностический подход представляет затруднение и вызывает вопросы ввиду того, что даже неосложненная беременность у практически здоровых женщин сопровождается существенным ростом концентрации D-димеров в плазме крови, и это мешает оценке тех или иных результатов по критериям «норма» / «патология». В настоящее время в России в клинической практике доступны ряд диагностических наборов, позволяющих измерять D-димеры иммунологически, в количественном и полуколичественном вариантах анализа. Однако данные их сравнительной оценки, сопоставления допустимых (референтных) значений концентрации D-димеров на разных сроках физиологически протекающей беременности, в литературе отсутствуют или, по крайней мере, недоступны для ознакомления.

Цель. Сравнительная оценка допустимых (референтных) значений уровня D-димеров в соответствии с гестационным возрастом, определенных с помощью тест-систем различного происхождения.

Материалы и методы. В рамках проспективного исследования были получены данные о 301 женщине. С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушером-гинекологом, терапевтом и гематологом, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет. Выбраны следующие контрольные этапы (сроки) для исследования системы гемостаза, отражающие «критические» сроки беременности: прегравидарный период, 6-8 недель, 12-13 недель, 22-24 недели и 34-36 недель. При сходном в разные сроки обследования возрасте, наблюдения в прегравидарном периоде проводились преимущественно у первобеременных (81,5%).

Содержание D-димеров определялось с помощью тест-систем «Auto Blue D-dimer 400» (на коагулометре Helena C-1), «Auto Red D-dimer 700» (на коагулометре Sysmex CA-1500) фирмы Helena Bioscience, «IMMULITE 2000 D-Dimer» (на иммунохимическом анализаторе — IMMULITE 2000) / фирмы Siemens Healthcare Diagnostics и «D-dimer Nycocard» (на экспресс-анализаторе NycoCard Rider II) фирмы Axis Shield. Следует отметить, что данные реагенты имеют различную специфичность и чувствительность в связи с использованием для их изготовления тех или иных моноклональных антител к эпитопам γ-связей в D-доменах молекул фибрина (соответственно, MA8D3, DD5 и 54H9). Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Offis Exel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc 12.2.1. Использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для двух независимых групп, а также ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r). Статистически значимыми принимались различия $p<0,05$. Для показателей каждого теста на разных этапах обследования были рассчитаны медиана *(Me)* и референтные интервалы (2,5‰- 97,5‰).

Результаты. Первоначально были определены референтные интервалы для содержания D-димеров у женщин вне беременности. Они оказались достаточно отличными друг от друга при использовании различных тест-систем. Так, по данным использования реагента «Auto Blue D-dimer 400» допустимые значения уровня D-димеров составили 32,0–227,0 нг/мл *(Me* 109,0 нг/мл), реагента «Auto Red D-dimer 700» 10,0-181,1 нг/мл *(Me* 70,5 нг/мл), реагента «Immulait 2000 D-dimer» 50,0-836,6 нг/мл *(Me* 190,5 нг/мл), а «NycoCard D-dimer» —100,0–300,0 нг/мл *(Me* 100,0 нг/мл). Общим для полученных результатов явилось закономерное увеличение уровня D-димеров по мере прогрессирования беременности в сравнении с исходными (до беременности) показателями, однако найденные референтные интервалы также существенно отличались друг от друга. В случае использования реагента «Auto Blue D-dimer 400» эти интервалы составили на 6-8 неделе беременности 32,0–311,0 нг/мл *(Me* 166 нг/мл), на 12–13 неделе — 62,0–347,7 нг/мл *(Me* 171,0 нг/мл), на 22–24 неделе — 69,0–488,0 нг/мл *(Me* 166,0 нг/мл) и в конце срока вынашивания беременности — 122,3–699,0 нг/мл *(Me* 166,0 нг/мл).

Близкие результаты были учтены и на основе использования другого реагента того же производителя — «Auto Red D-dimer 700». Уровень D-димеров, измеренный на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 на 6–8 неделе беременности соответствовал диапазону 10,0–253,3 нг/мл *(Me* 83,5 нг/мл), на 12–13 неделе — 30,0–311,0 нг/мл *(Me* 131,0 нг/мл), на 22–24 неделе — 152,0–561,1 нг/мл *(Me* 271,0 нг/мл) и в конце беременности — 135,4–770,9 нг/мл *(Me* 330,0 нг/мл). Отметим, что коэффициент корреляции между результатами, полученными с помощью отмеченных выше тест-систем составил 0,84 ($p<0,001$). При использовании реагента «Immulait 2000 D-dimer» на анализаторе «IMMULITE 2000» найденные показатели были существенно выше. В частности, уровень D-димеров на 6–8 неделе беременности в этом случае определялся в диапазоне 84,7–815,7 нг/мл *(Me* 223,0 нг/мл), на 12–13 неделе — 112,5–1000,1 нг/мл *(Me* 255,0 нг/мл), на 22–24 неделе — 356,6–1457,5 нг/мл *(Me* 640,0 нг/мл) и перед родоразрешением — 420,1–2289,5 нг/мл *(Me* 975,0 нг/мл). Коэффициент корреляции результатов, учтенных с помощью тест-системы «IMMULITE 2000 D-Dimer» в сравнении с данными при применении реагентов «Auto Blue D-dimer 400» и «Auto Red D-dimer 700» составил, соответственно, 0,73 ($p<0,001$) и 0,79 ($p<0,001$).

В заключение были отслежены результаты определения уровня D-димеров «D-dimer Nycocard» на экспресс-анализаторе NycoCard Rider II, минимальный интервал между значениями которого составляет 100 нг/мл.

Установлено, что содержание D-димеров с этой техникой определений на 6–8 неделе беременности находилось в пределах от 100,0 до 300,0 нг/мл *(Me* 100,0 нг/мл), на 12–13 неделе — от 100,0 до 200,0 нг/мл *(Me* 100,0 нг/мл), на 22–24 неделе — от 100,0 до 460,0 нг/мл *(Me* 100,0 нг/мл) и в 34–36 недель — 100,0-865,0 нг/мл *(Me* 200,0 нг/мл). При этом найдено отсутствие достоверно значимой связи определений уровня D-димеров между этим и другими, использованными в работе реагентами ($r = 0,03–0,09$).

Выводы. В работе определены динамика и референтные интервалы содержания D-димеров в разные сроки физиологически протекающей беременности. Из четырех апробированных тест-систем для отслеживания данного параметра могут быть использованы лишь три их из них — «Auto Blue D-dimer 400», «Auto Red D-dimer 700» и «IMMULITE 2000 D-Dimer». Полученные данные могут быть учтены в качестве ориентировочных значений при диагностике венозного тромбоза, формировании группы высокого тромбогенного риска у беременных женщин и определения целесообразности применения антикоагулянтов в акушерской практике.

Референтные значения показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения

Д.м.н., проф. А.П. МОМОТ[1,2], к.м.н. И.В. МОЛЧАНОВА[2], к.м.н. Т.А. БАТРАК[2], асп. Д.Е. БЕЛОЗЕРОВ[3], асп. Д.А. ТРУХИНА[3], И.Ю. КУДИНОВА[3], Н.В. МАКСИМОВА[3], д.м.н., проф. Н.И. ФАДЕЕВА[2], д.м.н. Г.В. СЕРДЮК[1,2], к.м.н. В.В. РОМАНОВ[4]

[1]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава РФ, Барнаул, 656045; [2]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Барнаул, 656038; [3]КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, 656045; [4]ООО «Инвитро-Сибирь», Новосибирск, 630000

Цель исследования — определить референтные значения широкого спектра показателей системы гемостаза у женщин в прегравидарном периоде, в различные сроки физиологически протекающей беременности и через 2—3 дня после естественного родоразрешения.
Материал и методы. С помощью современного лабораторного оборудования учитывали показатели, характеризующие различные звенья системы гемостаза — сосудисто-тромбоцитарное, коагуляционное, антикоагулянтное и фибринолитическое. В ходе исследований использовались зарегистрированные в Российской Федерации тест-системы, поставляемые или производимые в нашей стране.
Результаты. Установлены допустимые значения показателей системы гемостаза по 70 различным параметрам. Полученные данные могут быть использованы в качестве ориентировочных при обследовании беременных женщин и учитываться при отборе их в группы высокого риска по тромботическим, геморрагическим и акушерским осложнениям.

Ключевые слова: физиологически протекающая беременность, система гемостаза, референтные интервалы лабораторных показателей, генерация тромбина.

Reference values of hemostatic system parameters in normal pregnancy and after delivery

A.P, MOMOT'-[2], I.V. MOLCHANOVA[2], T.A. BATRAK[2], D.E. BELOZEROV[3], D.A. TRUKHINA[3], I.YU. KUDINOVA[3], N.V. MAKSIMOVA[3], N.I. FADEEVA[1,2], G.V. 5ERDYUK[1-2], V.V. ROMANOV[4]

'Altai Branch, Hematology Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, Barnaul, 656045; 'Altai State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Barnaul, 656038; territorial Clinical Hospital, Barnaul, 656045; *lnvitro-Sibir l.TD, Novosibirsk, 630000

Objective. To determine the reference values of a wide range of parameters of hemostasis in women in pregravid period, at different stages of normal pregnancy and 2—3 days after vagina! delivery.
Material and methods. The indicators characterizing the various links of the hemostatic system — vascular-platelet, coagulant, fibrinolytic and anticoagulant were studied. We used registered in the Russian Federation test-systems, supplied or produced in our country.
Results. The allowable values of the hemostatic system were set by 70 different parameters. The obtained data can be used as a guideline when examining pregnanl women to evaluate thrombotic, hemorrhagic, and obstetric complications.
Key words: normal pregnancy, hemostatic system, *reference intervals of laboratory parameters, thrombin generation.*

Беременность, роды, послеродовой период тесно связаны со значительной заболеваемостью и смертностью для матери и плода [1—4]. Этот период жизни женщины ассоциируется с физиологической и прогрессирующей по срокам гестации активацией свертывания крови, целесообразность которой связывается с необходимостью снижения кровопотери в родах. Однако вынашивание беременности и послеродовой период определены в качестве доказанных факторов риска развития венозных тромбозов и тромбоэмболии легочной артерии, с частотой в 4—50 раз выше по сравнению с небеременными женщинами [5—7]. С другой стороны, маточные кровотечения — это события, обычные для всех этапов беременности, массивные же акушерские кровотечения являются опасным, угрожающим жизни осложнением у многих женщин [1,8,9].

Существует определенный парадокс — анализу системы гемостаза при ведении беременности и предупреждении ее осложнений придается большое значение, однако границы нормы и патологии на различных сроках гестации по большинству современных методов лабораторной диагностики нарушений гемокоагуляции остаются недоступными для

e-mail: xyzan@yandex.ru

специалистов разного профиля — врачей клинико-диагностических лабораторий, гематологов, акушеров-гинекологов и реаниматологов. Несмотря на имеющиеся обзоры в этой области [10, 11], лаборатории, как правило, используют допустимые интервалы показателей, полученных на образцах плазмы крови небеременных женщин, которые неприемлемы для принятия клинических решений во время беременности [12]. Большой интерес представляют и допустимые значения показателей гемокоагуляции в первые дни после родов, поскольку они способны помочь в дифференциальной диагностике хирургических и гематологических причин кровотечений, а также отборе пациенток, нуждающихся в пролонгированной тромбопрофилактике.

Цель настоящего исследования — определение референтных значений широкого спектра показателей системы гемостаза в прегравидарном периоде, в различные сроки физиологически протекающей беременности и через 2—3 дня после естественного родоразрешения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В рамках проспективного исследования были получены данные о 301 женщине, обследованной в женских консультациях и родильном доме №2 Барнаула в период с 2011 по 2013 г. Обследование женщин выполнялось в лаборатории патологии гемостаза КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (Барнаул) при участии сотрудников Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, лаборатории гематологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России и лаборатории ООО «Инвитро-Сибирь», Новосибирск. Настоящая работа была одобрена локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава РФ (выписка из протокола №14 от 11.12.13) и все участники дали свое информированное согласие.

С учетом результатов клинического и лабораторного обследования проводилась консультация акушера-гинеколога, терапевта и гематолога, после чего решался вопрос о включении женщины на том или ином сроке беременности в настоящее исследование. Учитывались данные у перво- и повторнобеременных в возрасте от 18 до 35 лет. Критерии исключения из исследования, характеристика обследованных женщин и рожденных ими детей приведены нами ранее [13].

Отобраны следующие контрольные точки для исследования системы гемостаза, учитывающие волны инвазии трофобласта: прегравидарный период, 6—8, 12—13, 22—24, 34—36 нед беременности и 2—3-и сутки после родоразрешения. Все женщины, принятые в исследование, обследовались, как правило, однократно.

Техника лабораторного обследования. Венозную кровь брали из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%). Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 мин при комнатной температуре, в результате получали обедненную тромбоцитами плазму. Для исследования функции тромбоцитов плазма крови, обогащенная тромбоцитами, получалась путем центрифугирования крови при 160g в течение 7 мин в условиях того же температурного режима. Пробы плазмы исследовались в течение первых 2 ч после получения. Перед проведением иммуноферментых анализов или до оценки эндогенного тромбинового потенциала по тесту генерации тромбина плазму хранили при температуре —40 °С в интервале от 1 сут до 1 мес в низкотемпературном холодильнике MDF-192 Ultra low temperature freezer («Sanyo»). Для определения уровня гомоцистеина использовалась сыворотка крови, полученная с использованием вакуумных пробирок Improvacuter (Lind-Vac) без наполнителя. Число тромбоцитов определялось в стабилизированной ЭДТА крови с использованием вакуумных пробирок Improvacuter (Lind-Vac) с растворенным стабилизатором — ЭДТА К3.

В работе использовалась следующая панель современного оборудования, применяющаяся в отечественных клинико-диагностических лабораториях [в квадратных скобках отмечено оборудование, примененное в работе для выполнения тех или иных методов диагностики системы гемостаза, см. таблицу]: гематологический анализатор МЕК-7222 J/K[1] («Nihon Kohden»); агрегометры оптические — Chronolog 490-4D[2] (CHRONO-LOG Corporation) и AggRAM[3] («Helena Laboratories»); коагулометры полуавтоматические — Helena C-l[4], АПГ4-02П[5] (ЭМКО) и Start 4[6] («Stago»); автоматические коагулометры — STA Compact[7] («Stago») и Sysmex CA-1500[8] («Sysmex Corporation»); планшетный флюориметр Fluoroskan Ascent[9] (ThermoFisher SCIENTIFIC) с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26; тромбоэластометр 4-канальный ROTEM Gamma[10] (Rotem); иммунохимические анализаторы — IMMULITE 2000[11] («Siemens Healthcare Diagnostics») и Architect i2000[12] (ABBOTT LABORATORIES S.A.); фотометры — спектрофотометр Photometr 5010 v5+[13] (Robert Riele GmbH &Co KG), микропланшетный фотометр Bio-Rad 680[14] («Bio-Rad Laboratories»); экспресс-анализатор (рефлектометр)[15] NycoCard Rider II («Axis Shield»); регистратор Тромбодинамика Т-2[16] («ГемаКор», Россия).

В ходе исследований использовались зарегистрированные в Российской Федерации тест-системы, поставляемые или производимые в нашей стране следующими фирмами: Технология-Стандарт (Россия), ГемаКор (Россия), AssayPro, St. Charles, MO, Axis-Shield, Siemens, BCM Diagnostics, Biomedica, Helena Bioscience, Rotem, Sekisui Diagnostics (American Diagnostica), Technoclone, Thrombinoscope BV. Анализ проводился в соответствии с инструкциями к наборам реагентов и рекомендациями ряда

Референтный диапазон значений показателей методов исследования системы гемостаза

Метод исследования, единица измерения	Реагент/фирма-изготовитель	До беременности	Срок беременности				
			6–8 нед	12–13 нед	22–24 нед	34–36 нед	на 2–3-и сутки после родов
1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и маркеры							
1.1. Количество тромбоцитов в крови, 10^9/л [1]	—	162–310 (239) [233,7±6,6] *n*=48	141–334 (233) [237,1 ±8,1] *n*=50	152–323 (243) [241,0±7,8] *n*=41	135–393 (246) [251,3±9,5] *n*=58	135-348(222) [224,11±9,9] *n*=38	160–465 (227) [254,2±14,8] *n*=31
1.2. Фактор 4 тромбоцитов, уровень, нг/мл [14]	IMUCLONE Platelet Factor ELISAkit/Sekisui Diagnostics (American	21–39 (30) [29,8±0,6] *n*=48	22–38(26) [27,2±0,6] *n*=49	21–41 (27) [28,7±0,9] *n*=40	20–36 (28) [27,4±0,6] *n*=55	20–41 (27) [28,5± 1,0) *n*=38	22-37 (27) [27,2±0,6] *n*=47
1.3. Агрегация тромбоцитов, % агрегации с агонистами (взятыми в следующей конечной концентрации в кювете агрегометра)							
1.3.1. Арахидоновая кислота (0,5 ммоль/л)[1]	Arachidonic Acid/Helena Biosciсnce	67–97 (84) [83,9±1,4] *n*=36	70–88 (85) [84,9±1,3] *n*=45	73–103 (86) [86,8±1,2] *n*=40	69–93 (84) [83,2±0,9] *n*=56	65–102(81) [82,6±1,5] *n*=39	68–93 (82) [82,5±1,1] *n*=46
1.3.2. АДФ (0,1 мкмоль/л)[2]	АДФ/Т—С	4–23(10) [11,2±0,9] *n*=42	3–37(13) [13,6±1,2] *n*=42	7–69(19) [25,9±3,5] *n*=36	10–86 (64) [53,6±3,6] *n*=51	10–92(47) [45,9±5,3] *n*=33	12–78(38) [40,9±3,6] *n*=43
1.3.3. АДФ (2,0 мкмоль/л)[2]		61–86 (74) [73,2±1,1] *n*=45	60–89 (76) [75,3± 1,1] *n*=45	54–92 (76) [74,5±1,5] *n*=40	61–88 (75) [73,8± 1,8] *n*=55	54–89(72) [72,6± 1,6] *n*=38	51–89 (73) [73,1 ± 1,6] *n*=45
1.3.4. АДФ (10,0 мкмоль/л)[3]	ADP/Helena Bioscience	58–93 (82) [79,4±1,5] *n*=44	68–94 (84) [83,0± 1,0) *n*=45	70–97 (86) [84,0± 1,4] *n*=38	71–91 (84) [83,1 ±1,1] *n*=44	62–103 (81) [81,1 ±1,9] *n*=36	58–94 (82) [81,3±1,3] *n*=48
1.3.5. Адреналин (10 мкг/мл)[2]	Адреналии/Т—С	50–84 (70) [69,1 ± 1,4) *n*=40	54–92 (73) [72,4±1,5] *n*=47	52–89 (71) [71,4± 1,8] *n*=36	53–92 (72) [72,8±1,5]*n*=53	53–96 (75) [73,5±2,0] *n*=53	54–93 (73) [72,6±1,6] *n*=44
1.3.6. Адреналин (5 мкмоль/л)[3]	Epinephrine/Helena Bioscience	60–95(81) [79,9±1,7] *n*=42	73–99 (83) [83,5±1,3] *n*=48	69–100(82) [83,4±1,6] *n*=38	66–93 (82) [81,3±0,96] *n*=54	64–99 (79) [80,6±1,7] *n*=36	62–93 (79) [79,5±1,1] *n*=48
1.3.7. Коллаген (2,0 мг/мл)[2]	Коллаген/Т—С	64–88(77) [77,0±1,0] *n*=46	60–94 (79) [79,3±1,1] *n*=51	65–95 (81) [79,9+1,31] *n*=40	60–95 (78) [78,4±1,3] *n*=55	59–92 (77) [77,1 ±1,6] *n*=38	60–94(81) [79,1 ± 1,41] *n*=48
1.3.8. Коллаген (10 мкг/мл)[3]	Collagen/Helena Bioscience	69–93(83) [82,0±1,1] *n*=44	72–94 (84) [83,7±0,9] *n*=50	70–97 (84) [84,0± 1,1] *n*=40	74–93 (84) [83,1±0,7] *n*=54	66-97 (82) [81,7±1,5] *n*=37	72-91 (83) [82,4±0,9] *n*=48
1.3.9. Ристомицин (1,5 мг/мл)[2]	Ристомицин/Т—С	75–99 (91) [89,6±1,0] *n*=50	76–99 (92) [91,2± 1,0] *n*=51	72–99 (91) [90,6±1,51 *n*=37	73–99 (92) [90,6±1,0] *n*=57	73–99 (92) [90,1 ±1,4] *n*=36	72–99 (91) [89,2±1,2] *n*=46
1.3.10. Ристомицин (1,5 мг/мл)[3]	Ristocetin/Helena Bioscience	64–92 (79) [77,9±1,2] *n*=42	68–96 (80) [80,3±1,1] *n*=46	69–93 (79) [79,5±1,0] *n*=39	69–92 (80) [80,3±0,9] *n*=54	56–97 (78) [78,5±0,9] *n*=36	60-88 (77) [75,8±1,0] *n*=48
1.4. Фактор Виллебранда и металлопротеиназа ADAMTS-13							
1.4.1. Ристоцетин-кофакторная активность, % агрегации[3]	Ristocetin Cofactor Kit/Helena Bioscience	54–152 (95) [94,8±4,0] *n*=40	64–129 (87) [90,0±2,7] *n*=47	68–160 (97) [104,9±4,6] *n*=40	70–178(112) [112,6±4,3] *n*=45	75–167 (134) [127,1±4,62] *n*=35	89–179 (139) [138,4±4,7] *n*=46
1.4.2. Фактор Виллебранда в плазме, уровень, %[14]	TECHNOZYM vWF: Ag ELISA/Technoclone GmbH	70–154(106) [109,3±3,7]*n*=44	79–182 (119) [125,4±4,3] *n*=47	98–186(121) [127,8±4,4] *n*=36	99–203(142) [144,4±4,1] *n*=51	105–208(148) [151,9±5,6] *n*=33	95–223(165) [161,1±6,2] *n*=40
1.4.3. Фактор Виллебранда в плазме, уровень, % [8]	vWF Ag/Siemens	62–157(102) [104,1±4,4] *n*=50	71–222 (124) [131,2±6,3] *n*=48	79-260(159) [164,0±8,0] *n*=41	104–260(190) [195,3±7,5] *n*=52	121-282 (260) [229,4±8,1] *n*=37	170–291 (260) [248,0±4,9] *n*=48
1.4.4. Металлопротеиназа AMTS-13, активность, %[14]	TECHNOZYM ADAMTS-13 Activity ELISA/Technoclone GmbH	50–142 (91) [92,8±3,4] *n*=51	45–152 (95) [95,2±4,1] *n*=50	50–126(84) [85,7±3,8] *n*=42	32–92 (67) [65,6±2,4] *n*=57	29–111 (55) [59,5±4,1] *n*=38	40–150(58) [68,3±4,3] *n*=47
1.4.5. Металлопротеиназа AD-	TECHNOZYM ADAMTS-13	0,89–2,88 (1,64)	1,04–3,04(1,71)	1,09–2,54 (1,65)	0,79-1,82 (1,17)	0,65–1,76(1,12)	0,70–2,24(1,02)
AMTS-13, уровень, мкг/мл[14]	Antigen ELISA/Technoclone GmbH	[1,65±0,07] *n*=51	[1,79±0,07] *n*=50	[1,68±0,07] *n*=43	[1,25±0,04] *n*=57	[1,18±0,05] *n*=38	(1,15±0,06]*n*=46
1.5. Эндотелин-1, уровень, фмоль/мл [14]	ENDOTHELIN (1—21)/ Biomedica	0,10–1,31 (0,39) [0,48±0,05] *n*=51	0,06–1,86(0,44) [0,59±0,07] *n*=47	0,06–1,60 (0,29) [0,50±0,10] *n*=40	0,05-1,54 (0,33) [0,41±0,06] *n*=50	0,07-1,68 (0,30) [0,50±0,09] *n*=37	0,05–1,24 (0,31) [0,41±0,07] *n*=44

Референтный диапазон значений показателей методов исследования системы гемостаза *(продолжение)*

Метод исследования, единица измерения	Реагент/фирма-изготовитель	До беременности	Срок беременности				
			6–8 нед	12–13 нед	22–24 нед	34–36 нед	на 2–3-и сутки после родов
1.6. Гомоцистеин, мкмоль/мл[12]	IMMULITE 2000 Homocystein/Siemens	5,8–13,3 (9,7) [9,7±0,3] *n*=50	4,7–12,5 (6,7) [7,2±0,3] *n*=48	4,1–8,4 (6,0) [6,2±0,3] *n*=42	3,1–8,4(5,4) [5,4±0,2] *n*=57	4,2–8,8 (5,8) [5,9±0,2] *n*= 39	6,0–15,4 (9,0) [9,8±0,4] *n*=44
2. Скрининговые коагуляционные тесты							
2.1. АПТВ, с, отношение [7]	Pathromtin SL/Siemens	0,92–1,24 (1,09) [1,09±0,01] *n*=48	0,86–1,25 (1,04) [1,04±0,02] *n*=50	0,88–1,14 (0,97) [0,99±0,01] *n*=42	0,83–1,14 (0,96) [0,97±0,01] *n*=55	0,85–1,15 (0,95) [0,97±0,01] *n*=40	0,71–1,08 (0,93) [0,92±0,01] *n*=50
2.2. АПТВ, с, отношение [5]	АПТВ-Эл-тест/Т–С	0,89–1,17 (1,02) [1,03±0,01] *n*=52	0,92–1,18 (1,03) [1,04±0,01] *n*=51	0,89–1,16 (1,01) [1,01±0,01] *n*=43	0,90–1,13 (1,00) [1,00±0,01] *n*=59	0,87–1,18 (0,99) [1,01±0,01] *n*=38	0,90–1,1 (1,01) [1,02±0,01] *n*=48
2.3. Протромбиновый тест, с, отношение[8]	Tromborel S/Siemens	0,93–1,18 (1,06) [1,06±0,01] *n*=50	0,95–1,15 (1,04) [1,04±0,01] *n*=52	0,94–1,14 (1,01) [1,02±0,01] *n*=41	0,95–1,12 (1,02) [1,02±0,01] *n*=55	0,92–1,14 (1,01) [1,03±0,01] *n*=38	090–1,05 (0,98) [0,99±0,01] *n*=48
2.4. Процент по Квику, % [8]		75–115 (91) [91,1±1,48] *n*=50	76–110 (96) [94,4±1,22] *n*=50	79–113 (99) [97,8±1,36] *n*=41	83–109 (98) [96,9±0,95] *n*=55	84-117 (98) [98,4±1,58] *n*=37	89–121 (103) [102,8±1,33] *n*=48
2.5. Протромбиновый тест, отношение [8]	Техпластин-тест/Т–С	0,93–1,15 (1,00) [1,02±0,01] *n*=50	0,93–1,19 (1,06) [1,05±0,01] *n*=50	0,91–1,11 (1,00) [1,01±0,01] *n*=42	0,88–1,06 (0,94) [0,95±0,01] *n*=54	0,87–1,08 (0,97) [0,97±0,01] *n*=40	0,85–1,03 (0,92) [0,93±0,01] *n*=48
2.6. Процент по Квику, % [8]		70–115 (98) [94,2±1,87] *n*=50	63–110 (89) [89,6±1,79] *n*=50	75–119 (98) [97,7±2,00] *n*=40	89–141 (113) [114,4±2,15] *n*=54	86–157 (109) [111,5±3,58] *n*=38	92–132 (112) [111,2±1,50] *n*=48
2.7. Тромбиновое время, с, отношение [8]	Test Thrombin Reagent/ Siemens	0,87–1,09 (0,97) [0,97±0,01] *n*=50	0,87–1,07 (0,96) [0,96±0,01] *n*=52	0,85–1,11 (0,95) [0,96±0,01] *n*=41	0,86–1,06 (0,95) [0,96±0,01] *n*=55	0,90–1,15 (0,97) [0,98±0,01] *n*=38	0,90–1,25 (1,03) [1,04±0,01] *n*=51
2.8. Тромбиновое время, с, отношение [8]	Тромбо-тест/Т-С	0,89–1,10 (0,95) [0,97±0,01] *n*=45	0,85–1,06 (0,95) [0,95±0,01] *n*=46	0,81–1,06 (0,95) [0,95±0,01] *n*=41	0,81–1,06 (0,90) [0,91±0,01] *n*=55	0,85–1,07 (0,94) [0,94±0,01] *n*=37	0,91–1,25 (1,05) [1,05±0,01] *n*=46
2.9. Батроксобиновое время, с, отношение [8]	Batroxobin Reagent/ Siemens	0,79–1,04 (0,95) [0,92±0,01] *n*=40	0,83–1,05 (0,95) [0,94±0,01] *n*=46	0,79–1,05 (0,96) [0,96±0,01] *n*=37	0,87–1,07 (0,95) [0,96±0,01] *n*=56	0,83–1,18 (1,00) [1,01±0,02] *n*=35	1,00–1,27 (1,09) [1,10±0,01] *n*=45
3. Активность факторов свертывания крови							
3.1.Фактор II, %[6]	Coagulation Factor II Deficient Plasma/Siemens	86–144 (108) [109,8±2,2] *n*=50	88–150 (117) [120,6±2,8] *n*=48	100–200 (140) [141,8±3,6] *n*=42	105–178 (135) [135,0±2,8] *n*=54	105–210 (139) [136,9±4,0] *n*=36	111–183 (144) [144,4±2,9] *n*=48
3.2. Фактор V, %[5]	Coagulation Factor V Deficient Plasma/Siemens	50–140 (86) [86,0±3,3] *n*=49	40–120 (70) [75,0±3,8] *n*=44	26–150 (68) [74,0±5,5] *n*=40	14–82 (46) [46,8±2,7] *n*=53	25–122 (58) [64,5±4,8] *n*=35	37–150 (80) [84,2±5,3] *n*=45
3.3. Фактор VII, %[5]	Coagulation Factor VII Deficient Plasma/Siemens	67–170 (118) [118,5±4,2] *n*=43	69–297 (122) [132,6±8,2] *n*=48	116–439 (210) [232,3±15,2] *n*=42	133–600 (328) [353,1±21,1] *n*=54	153–600 [432,6±27,7] *n*=36	97–600 (202) [294,2±26,1] *n*=48
3.4. Фактор VIII, %[7]	Coagulation Factor VIII Deficient Plasma/Siemens	49–144 (84) [87,9±4,0] *n*=53	50–155 (105) [104,3±4,4] *n*=52	78–222 (126) [128,9±5,6] *n*=43	90–256 (167) [170,8±5,8] *n*=55	94–344 (180) [195,7±12,0] *n*=40	113–390 (175) [194,9±10,2] *n*=51
3.5. Фактор X, %[5]	Coagulation Factor X Deficient Plasma/Siemens	74–132 (93) [96,3±2,2] *n*=52	75–160 т(100) [109,4±3,8] *n*=43	92–168 (125) [126,9±4,0] *n*=39	113–194 (155) [154,5±3,2] *n*=54	119–244 (168) [174,0±6,3] *n*=33	110–238 (150) [156,3±4,8] *n*=43
3.6. Фактор XI, %[6]	Coagulation Factor XI Deficient Plasma/Siemens	53–150 (86) [97,2±4,7] *n*=49	55–217 (88) [100,3±7,5] *n*=50	56–184 (90) [96,7±52,2] *n*=41	49–172 (80) [87,4±4,2] *n*=56	50–207 (85) [100,4±8,4] *n*=32	61–180 (92) [10,5±6,9] *n*=44
3.7. Фактор XII, %[6]	Coagulation Factor XII Deficient Plasma/Siemens	47–143 (82) [87,2±4,3] *n*=48	51–217 (104) [122,1±8,7] *n*=45	66–300 (145) [158,7±12,0] *n*=36	73–267 (123) [135,2±7,4] *n*=54	52–314 (143) [163,7±15,6] *n*=32	96–323 (176) [197,4±13,4] *n*=40
3.8. Фактор XIII, %[13]	Berichrom Factor XIII /Siemens	83–142 (114) [115,5±2,4] *n*=47	85–142 (114) [114,8±2,3] *n*=49	75–135 (105) [104,7±3,4] *n*=37	73–121 (98) [98,2±2,1] *n*=51	79–120 (99) [99,2±2,1] *n*=51	76–129 (99) [99,5±2,5] *n*=41
4. Концентрация фибриногена и активность фибрин-мономеров							
4.1. Фибриноген г/л[8]	Техпластин-тест/Т–С	1,90–4,11 (2,70) [2,8±0,1] *n*=40	2,64–4,43 (3,48) [3,5±0,1] *n*=28	3,07–4,47 (3,70) [3,9±0,1] *n*=27	3,30–5,50 (4,00) [4,2±0,1] *n*=45	3,66–6,44 (4,90) [4,9±0,1] *n*=36	3,84–7,13 (5,48) [5,5±0,2] *n*=28
4.2. Фибриноген г/л[8]	Tromborel S/Siemens	2,50–4,41 (3,21) [3,3±0,1] *n*=40	3,25–5,47 (4,41) [4,3±0,1] *n*=29	3,64–6,28 (4,93) [5,0±0,1] *n*=28	4,21–6,13 [5,2±0,1] *n*=46	4,65–7,37 (6,15) [6,1±0,1] *n*=36	4,56–7,90 (5,94) [6,0±0,2] *n*=28
4.3. Фибриноген г/л[8]	МультиТех-Фибриноген/Т–С	1,89–3,95 (2,43) [2,6±0,1] *n*=42	2,01–5,70 (3,67) [3,7±0,2] *n*=43	2,50–6,24 (4,04) [4,2±0,2] *n*=39	3,19–6,47 (4,30) [4,5±0,1] *n*=48	3,48–7,04 (4,99) [5,1±0,2] *n*=34	3,38–7,05 (5,20) [5,2±0,2] *n*=44

Референтный диапазон значений показателей методов исследования системы гемостаза *(продолжение)*

Метод исследования, единица измерения	Реагент/фирма-изготовитель	До беременности	Срок беременности				
			6–8 нед	12–13 нед	22–24 нед	34–36 нед	на 2–3-и сутки после родов
4.4. Фибриноген г/л[8]	Multifibrin U/Siemens	2,08–4,05 (2,92) [2,9±0,1] *n*=45	2,38–5,21 (4,10) [4,0±0,1] *n*=42	2,80–6,28 (4,75) [4,8±0,1] *n*=39	3,70–6,48 (5,13) [5,2±0,1] *n*=54	4,49–9,06 (6,36) [6,4±0,2] *n*=36	4,87–8,50 (6,88) [6,8±0,2] *n*=45
4.5.Время самосборки фибрин-мономера, с, отношение[5]	Тех-Полимер-тест/Т–С	0,82–1,25 (1,05) [1,04±0,02] *n*=46	0,73–1,13 (0,90) [0,91±0,02] *n*=50	0,61–0,98 (0,84) [0,84±0,02] *n*=38	0,63–0,99 (0,84) [0,83±0,01] *n*=49	0,46–0,97 (0,80) [0,79±0,02] *n*=37	0,53–0,92 (0,78) [0,76±0,02] *n*=46
5. Маркеры активации свертывания крови, тромбинемии и фибринолиза							
5.1. Тканевой фактор, активность, пмоль/л[14]	Actichrome TF/Sekisui Diagnostics (American Diagnostica)	1,5–11,1 (2,9) [3,6±0,3] *n*=50	1,4–9,8 (2,9) [3,9±0,4] *n*=50	1,6–13,6 (3,6) [5,4±0,6] *n*=41	2,2–32,5 (6,7) [9,00±1,1] *n*=55	2,8–100,8 (7,9) [17,1±4,8] *n*=37	4,0–213,8 (8,9) [45,0±10,4] *n*=44
5.2. Фактор VIIa, активность, МЕ/мл[14]	AssaySence Human Factor VII Chromo-genicActivity/ AssayPro,St.Charles,MO	0,17–1,02 (0,56) [0,58±0,03] *n*=48	0,19–2,68 (0,65) [0,87±0,09] *n*=49	0,16–3,44 (0,79) [1,31±0,17] *n*=41	0,17–3,00 (0,97) [1,28±0,12] *n*=51	0,31–3,06 (0,87) [1,25±0,16] *n*=34	0,59–2,35 (1,20) [1,31±0,08 *n*=47
5.3. Комплекс «тромбин-антитромбин»,уровень, нг/мл [14]	AssayMax Human Thrombin-Antithrombin (TAT) Complexes ELISA/AssayPro, St.Charles, MO	3,6–42,3 (14,2) [17,4±1,6] *n*=48	3,0–38,3(93,5) [13,6±1,5] *n*=48	1,8–39,3 (8,7) [11,2±1,5] *n*=42	2,0–24,8 (6,4) [8,7±0,8] *n*=53	2,0–46,0 (7,7) [11,8±1,8] *n*=38	1,4–38,1 (8,8) [14,0±1,8] *n*=43
5.4. Фибринопептид А, уровень, нг/мл[14]	IMUCLONE FPA ELISA/ Sekisui Medical CO., Ltd	0,5–8,8 (1,4) [2,6±0,4] *n*=43	0,4–13,1 (2,9) [4,2±0,6] *n*=45	0,8–13,2 (2,8) [4,0±0,6] *n*=34	2,3–19,1 (6,1) [7,4±0,7] *n*=41	2,7–37,7 (5,4) [8,7±2,5] *n*=23	4,2–49,0 (8,8) [14,9±2,3] *n*=44
5.5. Растворимые фибрин-мономерные комплексы, уровень, мг/дл	РФМК-тест/Т–С	3,5–8,0 (3,5) [4,2±0,2] *n*=45	3,5–12,0 (7,2) [7,1±0,5] *n*=42	3,5–15,0 (11,0) [10,5±0,5] *n*=37	6,1–17,0 (13,5) [12,8±0,4] *n*=50	7,9–21,0 (16,5) [16,2±0,6] *n*=34	12,0–21,0 (16,0) [16,1±0,4] *n*=43
5.6. D-димеры, уровень, нг/мл[4]	Auto Blue D-dimer 400/Helena Bioscience	32–227 (109) [112,4±8,8] *n*=50	32–311 (166) [161,3±11,5] *n*=45	62–348 (171) [189,3±13,9] *n*=37	69–488 (277) [284,8±18,9] *n*=50	122–699 (374) [385,8±25,8 *n*=40	200–1120 (538) [573,8±40,0] *n*=44
5.7. D-димеры, уровень, нг/мл[8]	Auto Red D-dimer 700/Helena Bioscience	10–181 (71) [77,7±7,6] *n*=48	10–253 (84) [98,1±10,8] *n*=46	30–311 (131) [139,3±13,1] *n*=41	152–561 (271) [290,±14,3] *n*=53	135–771 (330) [382,2±26,4] *n*=37	206–959 (385) [457,4±34,9] *n*=40
5.8. D-димеры, уровень, нг/мл[15]	D-dimer Nycocard/Axis Shield	100–300 (100) [122,2±7,8] *n*=54	100–300 (100) [129,6±8,2] *n*=54	100–200 (100) [109,5±4,6] *n*=42	100–460 (100) [159,6±14,3] *n*=57	100–430 (200) [205,4±20,1] *n*=37	100–865 (200) [289,6±30,5] *n*=48
5.9. D-димеры, уровень, нг/мл[11]	IMMULITE 2000D-dimer/ Siemens	50–837 (191) [269,5±31,3] *n*=52	85–816 (223) [289,9±38,1] *n*=47	112–1000 (255) [330,0±48,8] *n*=30	357–1458 (640) [734,2±61,8] *n*=27	420–2290 (975) [1114,9±123,4] *n*=20	
6. Физиологические антикоагулянты							
6.1. Антитромбин III активность, %[8]	Berichrom Antitrombin III (A)/ Siemens	89–116 (109) [107,5±1,3] *n*=48	92–119 (103) [103,9±1,1] *n*=50	89–118 (102) [103,9±1,5] *n*=38	90–119 (105) [105,3±1,1] *n*=55	89–124 (107) [105,4±1,6] *n*=37	91–138 (119) [116,0±20,] *n*=48
6.2. Антитромбин III активность, %[13]	ХромоТех-Антитромбин/ Т–С	85–121 (101) [102,3±1,2] *n*=54	88–129 (104) [105,4±1,8] *n*=47	90–119 (108) [106,7±1,2] *n*=40	91–119 (106) [106,2±0,9] *n*=59	83–111 (99) [98,2±1,1] *n*=40	89–120 (104) [104±1,2] *n*=46
6.3. Скрининг нарушений в системе протеинаС, НО[8]	ProC Global/Siemens	0,80–1,39 (1,05) [1,06±0,02] *n*=46	0,78–1,36 (1,08) [1,07±0,03] *n*=50	0,74–1,44 (0,99) [1,02±0,03] *n*=40	0,74–1,05 (0,90) [0,90±0,01] *n*=55	0,65–1,00 (0,82) [0,82±0,01] *n*=40	0,57–1,12 (0,80) [0,83±0,02] *n*=46
6.4. Скрининг нарушений в системе протеинаС, НО[7]	ПАРУС-ТЕСТ /Т–С	0,78–1,30 (1,00) [1,03±0,02] *n*=50	0,82–1,39 (0,99) [1,01±0,02] *n*=47	0,70–1,20 (1,00) [0,98±0,02] *n*=40	0,73–1,06 (0,88) [0,89±0,01] *n*=55	0,71–1,00 (0,83) [0,84±0,01] *n*=40	0,57–1,18 (0,84) [0,85±0,02] *n*=51
6.5. Протеин С, активность, %[8]	Berichrom Protein C/ Siemens	80–132 (104) [105,3±2,2] *n*=48	85–136 (109) [109,8±2,0] *n*=50	99–146 (119) [120,4±2,1] *n*=40	97–152 (122) [121,6±2,1] *n*=55	99–160 (118) [119,3±3,0] *n*=33	112–183 (142) [142,7±3,1] *n*=45
6.6. Протеин С, активность, %[8]	Protein CReagent COAG/ Siemens	73–120 (92) [91,69±1,7] *n*=50	72–125 (91) [93,1±2,0] *n*=50	97–158 (122) [124,1±2,8] *n*=42	79–161 (131) [125,6±3,2] *n*=55	79–151 (102) [106,5±3,4] *n*=38	100–214 (144) [146,2±4,5] *n*=49
6.7. Резистентность V фактора к протеину С, НО[6]	Фактор V-РС-тест/Т–С	0,86–1,38 (1,00) [1,05±0,02] *n*=50	0,80–1,20 (1,00) [0,98±0,02] *n*=51	0,78–1,21 (1,00) [0,97±0,02] *n*=38	0,74–1,00 (0,90) [0,88±0,01] *n*=58	0,60–1,20 (0,89) [0,88±0,03] *n*=34	0,61–1,00 (0,90) [0,87±0,01] *n*=48
6.8. Свободный протеин S, активность, %[14]	IMUCLONE Free Protein S ELISA/ Sekisui Diagnostics (American Diagnostica)	64–143 (117) [110,9±3,2] *n*=48	47–122 (67,7) [76,1±3,2] *n*=50	56–121 (72) [77,7±3,3] *n*=41	39–108 (64) [68,8±2,7] *n*=54	37–102 (65) [66,0±3,0] *n*=38	45–114 (61) [68,0±3,0] *n*=43

Референтный диапазон значений показателей методов исследования системы гемостаза *(продолжение)*

Метод исследования, единица измерения	Реагент/фирма-изготовитель	До беременности	Срок беременности				
			6–8 нед	12–13 нед	22–24 нед	34–36 нед	на 2–3-и сутки после родов
6.9. Тромбомодулин (растворимый рецептор CD141), уровень, нг/мл[14]	CD141 ELISA KIT/BCM Diagnostics	2,19–6,57 (3,25) [3,74±0,20] *n*=48	2,38–6,74 (3,40) [3,69±0,17] *n*=48	1,77–8,02 (3,23) [4,09±0,30] *n*=40	2,26–7,41 (3,05) [3,66±0,21] *n*=52	2,48–8,05 (3,52) [4,12±0,26] *n*=37	1,67–7,30 (3,50) [3,99±0,26] *n*=45
6.10. Общий ингибитор пути тканевого фактора, активность, Е/мл[14]	ACTICHROME TFPI/ Sekisui Diagnostics (American Diagnostica)	1.07–2.99 (1,58) [1,79±0,08] *n*=48	0,75–3,33 (1,50) [1,62±0,10] *n*=50	0,85–3,69 (1,68) [1,80±0,11] *n*=43	0,95–3,84 (1,66) [1,90±0,11] *n*=55	1,13–3,06 (1,96) [2,04±0,11] *n*=35	1,54–5,18 (2,72) [2,95±0,15] *n*=45
		7. Методы выявления волчаночного антикоагулянта					
7.1. Тест с ядом гадюки Рассела, Скрининг, с, отношение[8]	LA1–Screening Reagent/ Siemens	0,83–1,19 (1,02) [1,01±0,02] *n*=50	0,77–1,28 (1,00) [1,01±0,02] *n*=43	0,75–1,35 (1,05) [1,04±0,03] *n*=30	0,81–1,31 (1,07) [1,06±0,03] *n*=35	0,92–1,24 (1,15) [1,11±0,02] *n*=28	0,69–1,12 (0,88) [0,90±0,02] *n*=46
7.2. Лебетоксовое время с разведенным ядом гюрзы, с, отношение[8]	Люпус-тест/Т–С	0,90–1,11 (0,97) [0,99±0,01] *n*=47	0,95–1,14 (1,00) [1,02±0,01] *n*=50	0,89–1,17 (1,01) [1,02±0,01] *n*=36	0,89–1,19 (1,00) [1,02±0,02] *n*=53	0,92–1,22 (1,03) [1,05±0,02] *n*=35	0,90–1,15 (1,00) [1,03±0,02] *n*=44
7.3. Протромбиновое время с разведенным тромбопластином, с, отношение[6]		0,88–1,13 (1,00) [1,01±0,01] *n*=52	0,87–1,09 (0,97) [0,98±0,01] *n*=54	0,92–1,14 (0,99) [1,00±0,01] *n*=42	0,87–1,11 (0,97) [0,99±0,01] *n*=59	0,83–1,12 (0,97) [0,98±0,01] *n*=40	0,88–1,08 (0,99) [0,99±0,01] *n*=48
7.4. АПТВ ВА+, с, отношение[6]	Экспресс-Люпус-тест/Т–С	0,84–1,11 (1,00) [0,98±0,01] *n*=48	0,90–1,17 (1,03) [1,02±0,01] *n*=50	0,87–1,14 (1,00) [1,00±0,01] *n*=40	0,89–1,17 (1,00) [1,01±0,01] *n*=55	0,86–1,17 (1,00) [0,99±0,02] *n*=36	0,82–1,10 (1,00) [0,98±0,01] *n*=45
7.5. АПТВ ВА –, с, отношение[6]		0,93–1,11 (1,02) [1,02±0,01] *n*=48	0,90–1,11 (1,03) [1,02±0,01] *n*=50	0,91–1,13 (1,03) [1,01±0,01] *n*=35	0,93–1,09 (1,03) [1,02±0,01] *n*=55	0,93–1,11 (1,00) [1,00±0,01] *n*=35	0,93–1,07 (1,00) [1,00±0,01] *n*=45
		8. Методы оценки фибринолитических реакций					
8.1.XIIa-зависимый лизис эуглобулинов, мин	Фибринолиз-тест/Т–С	6,0–17,0 (11,0) [11,2±0,5] *n*=40	8,0–26,9 (13,0) [15,0±0,8] *n*=46	9,0–38,0 (18,0) [20,7±1,5] *n*=42	9,3–42,4 (18,0) [21,3±1,4] *n*=53	12,0–44,6 (22,0) [22,9±1,4] *n*=37	13,3–61, (26,0) [32,4±2,3] *n*=47
8.2. Плазминоген, уровень, %[8]	Berichrom Plasminogen/ Siemens	84–135 (106) [105,9±2,4] *n*=48	85–140 [114,9±2,3] *n*=51	110–171 (138) [140,3±3,1] *n*=38	109–186 (147) [145,6±3,0] *n*=53	111–199 (161) [158,7±4,2] *n*=37	118–189 (155) [152,48±3,2] *n*=48
8.3. Плазминоген, уровень, %[13]	ХромоТех-Плазминоге/ Т–С	83–120 (99) [99,5±1,6] *n*=48	87–140 (111) [111,7±2,2] *n*=50	108–177 (155) [151,5±3,5] *n*=38	133–185 (156) [156,6±2,2] *n*=52	143–194 (166) [165,0±2,5] *n*=37	110–165 (137) [137,5±2,3] *n*=46
8.4. Тканевой активатор плазминогена, уровень, нг/мл[4]	t-PA Combi Actibidin ELISA/ Techoclone GmbH	1,1–14,9 (5,2) [6,2±0,58] *n*=48	1,0–15,0 (6,0) [6,0±0,54] *n*=49	0,9–20,3 (7,3) [8,4±0,91] *n*=41	2,2–25,1 (8,3) [8,83±0,71] *n*=54	1,9–26,3 [10,2±1,03] *n*=37	1,8–19,1 (7,6) [8,2±0,78] *n*=43
8.5. Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа, уровень, Е/мл[14]	TECHNOXYM PAI-1Actibind ELISA/ Techoclone GmbH	2,3–11,0 (3,0) [3,9±0,32] *n*=48	2,3–7,2 (2,8) [3,3±0,24] *n*=50	2,5–8,6 (3,0) [3,6±0,36] *n*=42	2,8–14,1 (4,5) [6,1±0,48] *n*=57	3,0–54,9 (15,3) [19,4±2,45] *n*=37	2,3–6,4 (2,7) [3,1±0,16] *n*=46
8.6.Урокиназный активатор плазминогена, уровень, нг/мл[14]	u-PA Combi Actibidin ELISA/ Techoclone GmbH	609–1240 (816) [883,6±34,2] *n*=39	511–1188 (787) [822,4±30,1] *n*=47	549–1172 (717) [787,8±29,3] *n*=39	461–935 (661) [680,5±18,5] *n*=51	440–1026 (726) [702,6±28,9] *n*=32	441–921 (590) [622,4±20,5] *n*=42
8.7. Урокиназный активатор плазминогена, уровень, Е/мл[14]		0,07–0,38 (0,18) [0,19±0,01] *n*=51	0,06–0,28 (0,16) [0,16±0,01] *n*=51	0,06–0,25 (0,13) [0,14±0,01] *n*=41	0,08–0,35 (0,15) [0,17±0,01] *n*=55	0,15–0,52 (0,28) [0,28±0,01] *n*=38	0,06–0,18 (0,12) [0,12±0,01] *n*=43
8.8. Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза, уровень, %[14]	IMUCLONE TAFI ELISA/ Sekisui Diagnostics (American Diagnostica)	49–153 (107) [104,4±4,5] *n*=50	63–163 (113) [116,5±4,2] *n*=50	78–196 (127) [130,7±5,2] *n*=42	103–200 (138) [144,1±3,7] *n*=55	106–245 (158) [160,9±7,7] *n*=39	80–199 (148) [147,1±5,1] *n*=45
8.9. α_2-Антиплазмин, активность, 65%[8]	Berichrom α_2-Antiplasmin/ Siemens	80–131 (113) [109,0±2,33] *n*=45	79–132 (113) [109,6±2,8] *n*=	62–124 (93) [92,8±3,3] *n*=37	45–93 (67) [65,4±2,0] *n*=53	46–94 (62) [66,6±2,9] *n*=34	50–129 (65) [74,9±4,2] *n*=37
		9. Тест генерации тромбина (калиброванная тромбография)					
9.1. Время запаздывания (Lag-time), мин	PPP-Reagent 5pM, Trombin Calibrator, FluCa-Kit/ Thrombinoscope BV	1,98–3,33 (2,33) [2,50±0,06] *n*=48	1,83–3,00 (2,33) [2,36±0,05] *n*=48	1,81–3,00 (2,38) [2,36±0,06] *n*=40	1,82–2,93 (2,33) [2,32±0,04] *n*=54	1,67–3,02 (2,43) [2,46±0,06] *n*=38	1,67–2,98 (2,33) [2,25±0,05] *n*=45
9.2. Время достижения пика Тромбина (tt-Peak), мин		4,50–9,47 (5,96) [6,37±0,2] *n*=48	4,06–7,79 (5,16) [5,46±0,2] *n*=48	4,17–7,34 (5,72) [5,64±0,2] *n*=40	4,00–6,33 (5,16) [5,24±0,1] *n*=54	3,67–7,51 (5,25) [5,47±0,2] *n*=38	3,65–6,00 (4,49) [4,51±0,1] *n*=45

Референтный диапазон значений показателей методов исследования системы гемостаза *(продолжение)*

Метод исследования, единица измерения	Реагент/фирма-изготовитель	До беременности	Срок беременности				
			6–8 нед	12–13 нед	22–24 нед	34–36 нед	на 2–3-и сутки после родов
9.3. Пиковый тромбин (Peak thrombin), нмоль/л		51–341 (186) [186,8±12,3] *n*=48	147–368 (290) [276,6±9,5] *n*=48	227–445 (283) [300,8±10,5] *n*=40	224–480 (325) [338,4±10,3] *n*=54	204–488 (318) [331,6±14,0] *n*=38	271–485 (376) [376,4±9,4] *n*=45
9.4. Эндогенный тромбиновый потенциал (ETP), нмоль/мин		589–1770 (1105) [1118,8±52,0] *n*=48	895–2165 (1542) [1524,6±51,3] *n*=48	1015–2444 (1605) [1648,9±65,2] *n*=40	1158–3072 (1723) [1857,3±67,6] *n*=54	993–2850 (1744) [1808,4±87,6] *n*=38	1165–2245 (1621) [1669,4±50,8] *n*=45
10. Тромбоэластометрия плазмы крови							
10.1. Время свертывания (CT), с	Star-TEM 10 (режим NA-TEM)/Rotem	609–1240 (816) [883,6±34,2] *n*=39	511–1188 (787) [822,4±30,1] *n*=47	549–1172 (717) [787,8±29,3] *n*=39	461–935 (661) [680,5±18,5] *n*=51	440–1026 (726) [702,6±28,9] *n*=32	441–921 (590) [622,4±20,5] *n*=42
10.2. Время образования сгустка фибрина (CFT), с		187–738 (348) [400,5±26,3] *n*=38	170–565 (252) [298,0±17,5] *n*=44	144–438 (264) [263,5±13,2] *n*=39	112–429 (223) [235,94±12,4] *n*=50	93–381 (224) [221,6±12,9] *n*=37	107–288 (170) [173,1±7,6] *n*=42
10.3. Максимальная плотность сгустка фибрина (MCF), мм		24,0–51,1 (36,0) [36,0±1,2] *n*=40	24,6–53,9 (39,0) [40,1±1,2] *n*=47	30,9–61,2 (45,5) [46,0±1,4] *n*=38	30,0–63,8 (49,0) [47,6±1,4] *n*=50	35,9–67,2 (51,0) [51,1±1,6] *n*=37	38,0–64,0 (55,0) [53,1±1,3] *n*=42
10.4. α-Угол, градусы		18,9–54,0 (39) [37,1±1,74] *n*=40	24,1–55,0 (48,0) [44,5±1,5] *n*=42	36,9–62,2 (48,0) [48,7±1,3] *n*=39	33,5–68,8 (54,0) [53,1±1,5] *n*=50	42,8–72,1 (53,0) [54,7±1,5] *n*=34	45,1–72,9 (59,5) [59,6±1,01] *n*=42
10.5. Плотность сгустка на 10-й минуте (A10), мм		16,0–39,1 (24,0) [25,2±1,1] *n*=40	18,1–41,0 (29) [30,3±1,03] *n*=45	22,0–50,2 (34,0) [34,6±1,30] *n*=39	22,3–52,5 (36,0) [35,7±1,25] *n*=51	28,0–53,5 (39,0) [39,7±1,27] *n*=37	33,0–55,9 (43,0) [42,9±0,97] *n*=42
10.6. Плотность сгустка на 15-й минуте (A15), мм		20,0–45,1 (29,0) [31,0±2,1] *n*=40	22,1–49,7 (34,0) [35,1±1,1] *n*=45	24,9–55,0 (39,0) [38,9±1,4] *n*=37	24,2–58,6 (41,0) [40,9±1,4] *n*=50	31,9–58,5 (45,0) [45,1±1,5] *n*=37	35,0–60,9 (49,0) [47,6±1,2] *n*=42
11. Оценка пространственного роста сгустка фибрина «Тромбодинамика»							
11.1. Время задержки (Tlag), мин	Trombodinamics/Гемакор	037–2,62 (1,12) [1,23±0,10] *n*=48	0,62–3,75 (1,12) [1,47±0,10] *n*=52	0,37–2,62 (0,87) [1,13±0,10] *n*=43	0,62–3,87 (1,12) [1,35±0,10] *n*=55	0,37–2,37 (0,79) [1,15±0,10] *n*=38	0,62–2,87 (1,37) [1,39±0,10] *n*=45
11.2. Стационарная скорость (Vs), мкм/мин		19,7–33,2 (24,4) [24,9±0,6] *n*=42	17,3–45,1 (26,2) [27,8±0,9] *n*=51	20,9–39,3 (27,2) [28,4±0,9] *n*=41	22,2–54,4 (33,2) [34,8±0,3] *n*=54	19,0–50,0 (29,4) [34,2±1,8] *n*=37	22,3–57,5 (35,0) [36,7±1,7] *n*=42
11.3. Начальная скорость (Vi), мкм/мин		35,0–58,7 (46,0) [45,8±1,0] *n*=49	29,8–66,5 (48,2) [47,6±1,1] *n*=53	33,8–57,2 (47,7) [47,4±0,9] *n*=38	37,–60,3 (49,7) [49,6±0,8] *n*=56	38,1–63,9 (50,2) [49,8±1,4] *n*=38	34,2–66,3 (51,7) [50,8±1,2] *n*=46
11.4. Размер сгустка на 30-й минуте (CS)		759–1292 (960) [982±22] *n*=45	685–1570 (1015) [1050±31] *n*=50	829–1379 (1087) [1086±26] *n*=42	824–1789 (1132) [1183±34] *n*=51	803–1696 (1144) [1162±50] *n*=37	829–1745 (1184) [1188±33] *n*=39

Примечание. Данные представлены в виде интервала 2,5–97,5‰, в круглых скобках – значение медианы (*Me*), в квадратных скобках – среднее значение и стандартная ошибка средней величины [*X*±*m*], *n* – число наблюдений. [1] – в надстрочном положении приведено используемое оборудование, АДФ – аденозиндифосфат динатриевая соль; АПТ или АЧТВ – активированное парциальное/частичное тромбопластиновое время; ВА+ – метод, высокочувствительный к эффектам волчаночного антикоагулянта; ВА– – метод, высочувствительный к эффектам волчаночного антикоагулянта; МЕ – международные единицы, НО – нормализованное отношение, отношение – рассчитывается как частное значений времени свертывания в опытном образце к значению в образце контрольной нормальной плазмы (последняя приготовлялась из смеси равных объемов бедной тромбоцитами плазмы 5–10 практически здоровых людей в возрасте от 18 до 35 лет);
Т–С – Технология–Стандарт; ADAMTS-13 – металлопротеиназа, расщепляющая фактор Виллебранда («a disinterin and metalloproteinase with a trombospondin type l motif, member 13»);
VIIa – активированный фактор VII.

известных руководств в области лабораторной диагностики нарушений гемостаза [14—17].

В качестве контрольной нормальной плазмы использовалась пулированная свежеполученная обедненная тромбоцитами плазма от 5— 10 практически здоровых людей в возрасте от 18 до 35 лет. Последняя применялась для расчетов отношения и нормализованного отношения при оценке результатов методов, обозначенных в таблице под № 2.1—2.3, 2.5, 2.7—2.9, 4.5, 6.3, 6.4, 6.7, 7.1—7.5, согласно инструкции по применению соответствующих наборов реагентов.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel 2003, Statistica 6.1. По большинству исследованных показателей отмечалось ненормальное распределение в выборке, в связи с чем применялся непараметрический метод анализа. Для показателей каждого теста на разных этапах обследования были рассчитаны медиана и референтные интервалы (2,5—97,5‰) в соответствии с ГОСТ Р53022-3 — 2008 [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты, в целом, выявили нарастающую активацию свертывания крови и фибринолиза в системном кровотоке (и блокирование пристеночного фибринолиза) у беременных женщин по мере увеличения сроков гестации, что было продемонстрировано следующими наблюдениями (см. таблицу).

Как и ожидалось, имелись значительные различия по большинству изученных показателей системы гемостаза (по 54 из 89 параметров) у беременных женщин в сравнении с аналогичными значениями у практически здоровых, небеременных женщин. С другой стороны, не было найдено достоверно выраженной динамики по таким параметрам как количество тромбоцитов в крови, уровень пластиночного фактора 4, агрегационная активность тромбоцитов (за исключением результатов, полученных при использовании низкой конечной дозы АДФ — 0,1 мкмоль/л), содержание эндотелина 1. То же касалось результатов определений в скрининговых коагуляционных тестах, оценки активности факторов XI и XIII и антитромбина III.

В задачи настоящей статьи не входил сколько-нибудь глубокий анализ всего спектра полученных данных с точки зрения эволюции гемостатического баланса в ходе физиологической беременности и роли его нарушений в проблемах репродукции человека. Это потребует дополнительного времени и иного формата публикации. Осмысление приведенных результатов выполнено лишь частично [13, 19—22] и работа в этом направлении продолжается.

К особенностям представленного материала можно отнести анализ в ряде случаев, того или иного показателя системы гемостаза с помощью двух или большего числа тест-систем различных производителей. В число таких показателей вошли скрининговые коагуляционные тесты, определение концентрации фибриногена, антигена фактора Виллебранда, активности антитромбина III, оценка нарушений в системе протеина С, измерение концентрации плазминогена и D-димеров. В частности, уровень D-димеров при беременности оценивался по данным применения четырех диагностических наборов 3 фирм-изготовителей, что может представлять несомненный интерес для большого числа отечественных лабораторий.

Важной частью выполненной работы считаем также получение референтных значений показателей для разных сроков беременности по ряду интегральных методов исследования системы гемостаза — тесту генерации тромбина (калиброванной тромбографии), тромбоэластометрии и при оценке пространственного роста фибринового сгустка по технологии Тромбодинамика, что не имеет аналогов в литературе, Эти методические подходы имеют хорошие перспективы для использования в рамках переоснащения и модернизации лабораторий, оказывающих диагностическую помощь в учреждениях родовспоможения России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследован широкий спектр лабораторных показателей, описывающих особенности функционирования системы гемостаза на разных сроках физиологически протекающей беременности, а также в первые дни после естественного родоразрешения. Эти данные могут быть использованы в качестве ориентировочных при обследовании беременных женщин и учитываться при отборе их в группы высокого риска по тромботическим, геморрагическим и акушерским осложнениям.

ПРЕДИКТОРЫ ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЗА ПРИ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТРОМБОПРОФИЛАКТИКЕ В ОРТОПЕДИИ

А.П. Момот[1], Е.В. Григорьева[2], М.Ю. Панов[2], И.А. Тараненко[1], И.В. Меркулов[3], Л.П. Цывкина[1]

[1]Алтайский филиал ГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России (г. Барнаул)
[2]КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул)
[3]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России (г. Барнаул)

Определена значимость факторов риска для возникновения флеботромбоза в ортопедии. В исследование включены 245 больных, 123 из которых получали лечение эноксапарином и 122 — дабигатраном. Учитывались 21 из известных факторов. Установлено, что использование 14-ти из них позволяет выделить группу крайне высокого тромбогенного риска. Намечены пути модификации в дооперационном периоде девяти из них, относящихся к группе управляемых, что может способствовать снижению частоты сосудистых катастроф.

Ключевые слова: факторы тромбогенного риска, медикаментозная тромбопрофилактика, эноксапарин, дабигатран.

Введение. Венозные тромбозы и легочная эмболия являются важнейшей проблемой медицины, значение которой в практике врачей различных специальностей трудно переоценить [2, 8]. В прошлом столетии всеобщее признание получило утверждение, что все факторы риска венозного тромбоза реализуются важными патофизиологическими процессами, описанными Р. Вирховым (1884), и что венозная тромбоэмболия при их отсутствии не развивается [6]. Существуют явные доказательства увеличения тромбогенного риска пропорционально количеству сопутствующих факторов [6, 7, 10]. Эндопротезирование крупных суставов стало привычным хирургическим вмешательством, широко применяемым как в России, так и за рубежом. Одной из ведущих проблем при этом оказалось развитие венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО), в генезе которых может играть роль как сама хирургическая манипуляция и сопутствующая иммобилизация, так и спектр других факторов (предикторов) тромбогенного риска — фоновые виды патологии и состояния, предрасполагающие к тромбозу вен (злокачественные опухоли, ожирение, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца (ИБС), варикозная болезнь, возраст, группа крови и ряд других) [5]. В международных и российских стандартах для преодоления этой проблемы предусматривается использование ряда лекарственных препаратов, подавляющих свертывание крови [4, 9]. Тем не менее эффективность такой терапии не абсолютна, например, по обобщенным данным частота развития тромбоза глубоких вен (ТГВ) после протезирования тазобедренного сустава составляет при применении профилактических доз гепарина — 30,1 %, варфарина — 22,2 %, низкомолекулярных гепаринов — 16,1 %, а при приеме плацебо — 54,2 % [9]. В литературе нет данных о том, какие факторы тромбогенного риска (ТР) имеют значение для возникновения венозного тромбоза в ходе проведения широко апробированных и рекомендованных схем антикоагулянтной профилактики.

Целью настоящей работы явилось выявление и определение значимости факторов тромбогенного риска для развития ВТЭО в период после эндопротезирования тазобедренного сустава на фоне современной медикаментозной тромбопрофилактики.

Материалы и методы. В исследование были включены 245 больных (101 мужского и 144 женского пола, средний возраст 55,8 ± 1,1 года) с тотальной артропластикой тазобедренного сустава. В качестве анестезиологического пособия использовалась спинальная анестезия. Пациенты были рандомизированы и разделены на две группы: из них 123 больных получали эноксапарин и 122 — дабигатран. Эноксапарин вводился подкожно в дозе 40 мг 1 раз в день (первая инъекция за 12 часов до операции, вторая — через 12 часов после операции) в течение 10 дней. Дабигатран назначался *peros* в дозе 220 мг 1 раз в сутки (начиная с половинной дозы через 1–4 часа после операции) на протяжении 28–35 дней послеоперационного периода.

При поступлении больных в стационар учитывалось наличие следующих известных факторов ТР: тромботического анамнеза, варикозного расширения вен нижних конечностей, ожирения, сочетания гипертонической болезни и ИБС, сахарного диабета 2 типа, пола, возраста и вредных привычек (курение).

Всем больным до операции и на 5, 10 и 30-е сутки после операции проводилось дуплексное ангиосканирование нижних конечностей. Лабораторное исследование крови проводилось накануне операции. Последнее включало в себя исследование крови на гематологическом анализаторе Drew D3 (США), определение ряда параметров свертывания крови в соответствии с принятыми рекомендациями [1, 3] — концентрации фибриногена (по Клауссу), активности фактора XIII (амидолитически), количества растворимых фибрин-мономерных

комплексов (РФМК) по ортофенантролиновому тесту, D-димеров (твердофазным иммунометрическим методом на оборудовании NycoCard Rider), данным методом исследовалось и количественное содержание С-реактивного белка (СРБ). Кроме того, определялся уровень гомоцистеина в крови (иммуноферментным методом), устанавливались группа крови и носительство тромбогенных ДНК-полиморфизмов.

Результаты исследования обрабатывали в соответствии с правилами описательной и аналитической статистики с помощью пакетов статистических программ Microsoft Exell 2003, Medcalc, Биостатистика (версия 6.1). Анализ дискретных данных выполняли путем оценки точного критерия Фишера. Статистическая значимость между двумя группами оценивалась по критерию Стьюдента (t) для парных и непарных выборок. Для вычисления отношения шансов использовали таблицы сопряженности.

Результаты и обсуждение. Из 245-ти больных, прошедших операцию по поводу замены тазобедренного сустава и наблюдавшихся в течение 30 дней, у 17-ти (6,9 %) развился ТГВ, из них у 14-ти больных (82,4 %) определены выраженные клинические симптомы сосудистой окклюзии. Тромбоз возникал, как правило, в первые 5 суток послеоперационного периода (в 76,5 % случаев) и локализовался преимущественно в берцовом сегменте вен (в 94,1 % наблюдений). Было отмечено, что ТГВ развивался в 2,38 раза чаще при тромбопрофилактике эноксапарином (12 больных или 9,8 %), в то время как прием дабигатрана сопровождался лишь пятью эпизодами венозного тромбоза (4,1 %).

Оценка 21-го из известных факторов тромбогенного риска, приведенных в табл. 1, выполнялась у всех обследованных больных на этапе планирования операции.

Таблица 1

Анализ значимости различных факторов тромбогенного риска для развития ТГВ после операции, связанной с эндопротезированием тазобедренного сустава

Признак	Больные без ТГВ, % (n = 228)	Больные с ТГВ, % (n = 17)	Одномерный анализ	
			OR (0,95 CI)	P
1. Варикозное расширение вен нижних конечностей	16,6	47,05	4,44 (1,61–12,25)	0,0055
2. Уровень D-димеров более 300 нг/мл	13,8	33,3	3,11 (0,71–13,57)	0,136
3. Гиперфибриногенемия (> 5,0 г/л)	5,85	14,28	2,68 (0,54–13,25)	0,222
4. Гипертоническая болезнь , ИБС	63,6	82,3	2,67 (0,75–9,57)	0,186
5. Гипергомоцистеинемия (> 15 мкмоль/л)	45,4	66,6	2,40 (0,20–28,45)	0,593
6. Высокий уровень СРБ (> 5 мг/л)	10,14	20,0	2,21 (0,22–22,68)	0,445
7. Группа крови – не «0»	60,35	76,47	2,13 (0,68–6,75)	0,209
8. Мутация FV Leiden (G/A)	4,57	9,09	2,09 (0,23–18,66)	0,433
9. Возраст старше 60 лет	36,8	52,9	1,93 (0,72–5,19)	0,203
10. Сахарный диабет 2 типа	4,38	5,88	1,36 (0,16–11,32)	0,554
11. Полиглобулия *	40,0	46,6	1,31 (0,46–3,75)	0,600
12. Уровень фактора XIII > 140 %	43,9	50,0	1,28 (0,17–9,52)	1,000
13. Лейкоцитоз (> 8,0 × 10^9/л)	17,48	20,0	1,18 (0,32–4,38)	0,733
14. Полиморфизм MTHFR (C/T, T/T)	8,49	9,09	1,08 (0,13-0,09)	1,000
15. Активное курение	17,9	17,6	0,98 (0,27-3,56)	0,743
16. Тромбоз в анамнезе	7,01	5,88	0,83 (0,10–6,65)	1,000
17. Ожирение (ИМТ > 30 кг/$м^2$)	40,3	35,3	0,81 (0,29–2,26)	0,800
18. Повышение РФМК (> 10 мг/100 мл)	21,0	16,6	0,75 (0,16–3,58)	1,000
19. Гиперагрегация тромбоцитов (> 80 %)	18,3	14,3	0,74 (0,08–6,71)	1,000
20. Полиморфизм PAI-I (4G/4G, 4G/5G)	35,9	27,3	0,67 (0,17–2,62)	0,748
21. Мужской пол	45,1	17,6	0,26 (0,07–0,93)	0,039

Примечание: * — при наличии у мужчин уровня гемоглобина > 160 г/л, числа эритроцитов > $5{,}0 \times 10^{12}$/л, у женщин — уровня гемоглобина > 140 г/л, количества эритроцитов > $4{,}5 \times 10^{12}$/л

Интересно, что в числе ведущих факторов риска оказалась варикозная болезнь, вероятность развития ТГВ при которой возрастала в 4,44 раза (P = 0,0055). Известно, что сущность варикозного расширения вен нижних конечностей состоит в наличии диспластических дефектов строения сосудистой стенки, которые приводят к замедлению кровотока. Сопутствующими этому процессу можно признать и повышенную вязкость крови вследствие увеличения числа эритроцитов и высокого уровня гемоглобина, найденных в 46,6 % случаев у больных с ТГВ. Следующим по убыванию, с точки зрения значимости для развития венозного тромбоза фактором ТР, показал себя уровень D-димеров, измеренный накануне операции (OR 3,11). Поскольку данный лабораторный маркер отражает процессы состоявшегося фибринообразования и последующего тромболизиса, повышенный уровень D-димеров отражает состояние тромботической готовности. Гиперфибриногенемия, наблюдающаяся при проявлениях эндотелиоза в случае гипергомоцистеинемии, гипертонической болезни и коронарной болезни сердца, также заслуживает внимания для предоперационной оценки ТР. В значимые факторы риска попали мутация FV Leiden (OR 2,09), а также высокий уровень СРБ (OR 2,21) и лейкоцитоз (OR 1,18), отражающие наличие хронической инфекции, возраст старше 60 лет и сопутствующий ему сахарный диабет 2 типа. Еще один фактор риска — высокая активность фактора XIII очень интересен, поскольку он способен привести к гиперстабилизации фибрина, ухудшить его лизис и сместить, тем самым, гемостатическое равновесие в сторону тромбообразования. Характерно, что проявил себя и такой фактор, как не «0» группа крови, редко учитываемый в подобных исследованиях, в то же время гендерные различия, в частности, отношение к мужскому полу было благоприятствующим не наступлению тромбоза (OR 0,26; P = 0,039).

Информативность каждого из факторов ТР вычислялась нами также в баллах исходя из частоты их встречаемости у больных с реализованным ТГВ, в сравнении с частотой их определения у лиц, не имеющих тромбоза, по формуле:

Факторы тромбогенного риска	Группы больных (n = 245)		P
	с ТГВ (n = 17)	без ТГВ (n =2 28)	
Все изученные факторы тромбогенного риска (n = 21)	6,96 ± 0,69	5,03 ± 0,17	< 0,01
Факторы тромбогенного риска со значимостью более 1,0 (n = 14)	6,08 ± 0,65	3,88 ± 0,15	< 0,001

С учетом присвоения каждому фактору ТР количественной величины (в баллах) и их суммации, были получены следующие результаты (табл. 2).

Таблица 2

Сумма факторов ТР (в баллах, M ± m), по данным предоперационного скрининга у больных с развитием ТГВ и без него

Управляемые факторы риска	Методы управления
1. Венозный застой при варикозной болезни	Курс перемежающей пневматической компрессии сосудов нижних конечностей
2. Высокий уровень СРБ (> 5 мг/л), гиперфибриногенемия (> 5,0 г/л), лейкоцитоз (> $8{,}0 \times 10^9$/л)	Выявление очага инфекции, хирургическая санация, антибиотико- и противовоспалительная терапия, применение эндотелиопротекторов
3. Уровень D-димеров более 300 нг/мл	Терапия низкомолекулярными гепаринами
4. Гипертоническая болезнь в сочетании с ИБС	Стабилизация артериального давления, обеспечение адекватного коронарного кровотока
5. Гипергомоцистеинемия (> 15 мкмоль/л)	Прием витаминно-фолатного комплекса (препарат «Ангиовит»)
6. Сахарный диабет 2 типа	Нормализация уровня глюкоземии
7. Полиглобулия	Использование препаратов, улучшающих реологические свойства крови (препарат «Трентал»), цитоферез, гирудотерапия
8. Высокий уровень фактора XIII (> 140 %)	Терапия тиенопиридинами (препарат «Плавикс»)

Оперативные вмешательства в ортопедии, связанные с заменой крупных суставов, сами по себе относятся к числу операций высокого тромбогенного риска [2, 9]. По нашим данным, использование 14-ти наиболее значимых факторов из всех изученных позволяет выделить дополнительно группу — крайне высокого тромбогенного риска. Мы полагаем, что больные, относящиеся к этой группе, где сумма факторов тромбогенного риска превышает 6,1 балла, нуждаются к коррекции управляемых факторов риска, к числу которых можно отнести 9 из 14-ти отобранных (табл. 3). Вероятно, лишь после коррекции сопутствующей патологии пациенты должны быть допущены к оперативному вмешательству.

Таблица 3

Управляемые факторы тромбогенного риска у больных перед операцией по поводу эндопротезирования тазобедренного сустава

Управляемые факторы риска	Методы управления
1. Венозный застой при варикозной болезни	Курс перемежающей пневматической компрессии сосудов нижних конечностей
2. Высокий уровень СРБ (> 5 мг/л), гиперфибриногенемия (> 5,0 г/л), лейкоцитоз (> 8,0 × 10^9/л)	Выявление очага инфекции, хирургическая санация, антибиотико- и противовоспалительная терапия, применение эндотелиопротекторов
3. Уровень D-димеров более 300 нг/мл	Терапия низкомолекулярными гепаринами
4. Гипертоническая болезнь в сочетании с ИБС	Стабилизация артериального давления, обеспечение адекватного коронарного кровотока
5. Гипергомоцистеинемия (> 15 мкмоль/л)	Прием витаминно-фолатного комплекса (препарат «Ангиовит»)
6. Сахарный диабет 2 типа	Нормализация уровня глюкоземии
7. Полиглобулия	Использование препаратов, улучшающих реологические свойства крови (препарат «Трентал»), цитоферез, гирудотерапия
8. Высокий уровень фактора XIII (> 140 %)	Терапия тиенопиридинами (препарат «Плавикс»)

Мы полагаем, что новый представленный в работе подход к оценке индивидуального риска поможет объективизировать определение вероятности тромбообразования у конкретного больного и определить необходимость и интенсивность профилактического лечения.

Выводы

1. Несмотря на использование современных средств и схем антикоагулянтной тромбопрофилактики (эноксапарином или дабигатраном), в
эндопротезирования тазобедренного сустава остается достаточно высокой, по нашим данным, ТГВ был диагностирован в 6,9 % случаев.
2. По результатам сравнительного анализа приведенного выше спектра факторов тромбогенного риска отобраны 14 из них, потенциально способных приводить к развитию ВТЭО в условиях общепринятой тромбопрофилактики.
3. Намечены пути коррекции управляемых факторов ТР, нейтрализация которых может способствовать снижению частоты сосудистых катастроф в послеоперационном периоде.

Список литературы

1. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. — М. : Ньюдиамед, 2001. — 296 с.
2. Кириенко А. И. Стратегия профилактики острых венозных тромбозов у хирургических больных / А. И. Кириенко, В. В. Андрияшкин // Трудный пациент. — 2004. — Т. 2, № 5. — С. 3–7.
3. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности : монография / А. П. Момот [и др.] ; под ред. А. П. Момота. — Барнаул : Изд-во Алтайского государственного университета, 2011. — 138 с.
4. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений / В. С. Савельев [и др.] // Флебология. — 2010. — Т. 4, вып. 2. — С. 3–37.
5. Флебология : руководство для врачей / В. С. Савельев [и др.] ; под ред. В. С. Савельева. — М. : Медицина, 2001. — 664 с.

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 615.273.53.03:616-005.6-0843.036.8

А. П. Момот[1,2], Е. В. Григорьева[3], Л. П. Цывкина[1,2], М. Ю. Панов[3], И. В. Меркулов[2,3]

МОНИТОРИНГ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДАБИГАТРАНА В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ АРТРОПЛАСТИКИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России[1], ГОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Росздрава[2], ГУЗ Краевая клиническая больница[3], Барнаул

Проведен анализ показателей системы гемостаза при приеме нового антикоагулянта дабигатрана этексилата в период после артропластики тазобедренного сустава. Определено, что среди коагуляционных методов исследования наиболее специфичным к действию дабигатрана является определение тромбинового ши эхитоксового времени свертывания. С учетом такой чувствительности последнего к антикоагулянтному действию D-димеров эхитоксовый тест представляется оптимальным при лабораторном мониторинге применения дабигатрана после ортопедических вмешательств.

К л ю ч с в ы е с л о в а: *система гемостаза, дабигатрана этексилат, лабораторный мониторинг,, D-димеры, эхитоксовый тест*

A.P. Momot, Ye. V. Grigoiyeva, L. P. Tsyvkina. M.Yu. Panov, I.V. Merkulov

THE MONITORING OF APPLICATION OF DABIGATRAN AS A REMEDY OF THROMBOEMBOLIC COMPLICATIONS AFTER HIP JOINT ARTHROPLASTY

The analysis was applied to the indicators of hemostasis system under application of new anticoagulant dabigatran etexilat,after hip joint arthroplasty. It is established that among the coagulation methods analysis the most specific to the effect of dabigatran is the testing of thrombin and echitox time of coagulation.Considering low sensitivity of the echitox to anticoagulation effect of D-dimer, the echitox test is optimal for laboratory monitoring of application of dabigatran after orthopedic intervention.

K e y w o r d s: *hemostasis system, dabigatran etexilat, laboratory monitoring, D-dimer, echitox test*

Антикоагулянты входят в число наиболее востребованных лекарственных средств в различных областях клинической медицины. Они влияют на гемостаз и используются для профилактики и терапии артериальных или венозных тромбозов. Знание их свойств и навыки терапевтического применения необходимы для того, чтобы достигнуть максимальной пользы и ограничить частоту осложнений, связанных с кровотечениями или парадоксальными эффектами при их применении, например с варфариновым некрозом кожи, тромбозами при гепарининдуцированной тромбоцитопении или обусловленным гепарином избыточным потреблением антитромбина III [5,8].

Базовые задачи лабораторного контроля при использовании антикоагулянтов сводятся к обеспечению безопасности такой терапии путем динамического измерения выраженности гипокоагуляции по показателям активированного парциального тромбопластинового времени - АПТВ/АЧТВ (при гепаринотерапии), оценке анти-Х а-активности (при приеме низкомолекурных гепаринов) или использовании расчета международного нормализованного отношения но данным протромбинового теста (при контроле за приемом варфарина и его аналогов). Эффективность же антикоагулянтной терапии определяется по совершенно другим лабораторным критериям – динамичному снижению уровня маркеров тромбинемии, состоявшегося фибринобразования и фибринолиза [2 4].

Известные недостатки традиционно используемых антикоагулянтов - узкая терапевтическая широта (кумарины), зависимость от активности антитромбина III (гепарины), тромботцитопения, остеопороз, ряд других побочных эффектов, привели к разработке нового поколения лекарственных средств, дающих более управляемые терапевтические эффекты [6,9]. Одно из них – дабигатрана этексилат, который после регистрации в РФ (в сентябре 2009 г.) широко используется

Для к о р р е с п о н д е н ц и и:
Момот Андрей Павлович, д-р мед. наук, проф., рук. филиала Адрес: 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1 Телефон: (3852) 689-800.

в ортопедических клиниках страны. По литературным данным, он обладает способностью при приеме per os прямо и с высокой специфичностью связывать тромбин, опосредованно блокировать индуцированное тромбином превращение фибриногена в фибрин и, что очень важно, не требует рутинного лабораторного контроля в отличие от варфарина и его аналогов [10, 13]. Пока зарегистрированным в европейском сообществе и РФ показанием для использования дабигатрана является тромбопрофилактика после замены крупных суставов, на очереди разрешение в РФ применения данного препарата для предупреждения системных тромбоэмболий при фибрилляции предсердий, имеются сообщения и о перспективности его использования при лечении венозных тромбозов и тромбоэмболий в общеклинической практике [7, 12]. Отрицание необходимости рутинного лабораторного контроля за приемом этого нового и перспективного антикоагулянта не означает общего отрицания контроля системы гемостаза при наблюдении за состоянием больных, проходящих тромбопрофилактику. Прежде всего это касается оценки эффективности применения данного фармакологического препарата, являющейся гарантом снижения вероятности тромбоэмболических осложнений в каждом конкретном случае.

Целью работы стал анализ спектра изменений показателей системы гемостаза при профилактическом применении дабигатрана после тотальной артропластики тазобедренного сустава.

Материалы и методы. В исследование включены 80 больных (26 мужчин и 54 женщины; средний возраст 56,2 ± 0,8 года), прошедших ортопедическое вмешательство. Контрольная группа была представлена 30 практически здоровыми лицами обоего пола сходного возраста.

Дабигатран назначали per os в дозе 220 мг 1 раз в сутки (начиная с 110 мг через 1-4 ч после операции) на протяжении 4 нед послеоперационного периода. Накануне операции, на 5, 10 и 30-е сутки после оперативного вмешательства пациентам проводили лабораторное исследование системы гемостаза. Последнее включало оценку количества тромбоцитов в крови на гематологическом анализаторе Drew D3 (США), измерение АПТВ, протромбинового, тромбинового, лебетоксово- го и эхитоксового времени свертывания, активности анти- тромбина III (тест-системы и реагенты производства фирмы "Технология-стандарт", Россия). Эти измерения проводили на базе коагулометра Sysmex CA-1500 (Япония) в соответствии с имеющимися рекомендациями [1]. Учет отклонений показателей коагуляционных тестов оценивали в ratio - отношении времени свертывания в с в опытном (у больного) и контрольном (у практически здорового человека) образцах плазмы крови. Дополнительно определяли уровень маркеров тромбинемии - растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) по ортофенантролиновому тесту, и свидетелей фибринолиза - D-димеров (твердофазный иммунометрический метод сэндвич-типа на оборудовании NycoCard Rider, Норвегия).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы Microsoft Offis Excel 2003. Результаты исследования оценивали методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента и непараметрического корреляционного анализа.

Результаты и обсуждение. При проведении исследований выявили неодинаковые изменения показаний известных коагуляционных тестов в ответ на прием дабигатрана (табл. 1).

Таблица 1

Показатели коагуляционного гемостаза у больных при артропластике до и после приема дабигатрана

Срок обследования	Метод исследования гемостаза				
	тромбиновый тест, *r***	эхитоксовый тест, *r*	АПТВ, *r*	протромбиновый тест, *r*	лебетоксовый тест, *r*
До операции* (1)	1,16 ±0,02	1,15 ±0,04	1,07 ±0,01	1,05 ±0,02	1,04 ± 0,02
Через 5 дней (2)	2,86 ±0,22	2,04 ± 0,13	1,22 ± 0,04	1,05 ±0,01	1,04 ± 0,04
	P_{1-2} < 0,001	P_{1-2} < 0,001	P_{1-2} *<0,01*	P_{1-2} *> 0,5*	P_{1-2} *> 0,5*
Через 10 дней(3)	2,70 ± 0,22	1,66 ± 0,14	1,17 ±0,03	1,04 ±0,02	0,95 ± 0,04
	P_{1-3} < 0,001	P_{1-3} <0,01	P_{1-2} < 0,01	P_{1-3} *>0,5*	P_{1-3} *< 0,05*
Через 30 дней	1,12 ±0,07	1,10 ±0,03	1,07 ±0,03	0,99 ± 0,03	1,06 ±0,04
(4)***	P_{1-4} > 0,2	P_{1-4} > 0,2	P_{1-4} > 0,5	P_{1-4} > 0,1	P_{1-4} > 0,5

Примечание.* - здесь и в табл. 2 показатели до приема дабигатрана; ** - ratio - отношение времени свертывания в с в опытном (у больного) и контрольном (у практически здорового человека) образцах бедной тромбоцитами плазмы крови;
*** - приведены результаты после отмены антикоагулянта,

Таблица 2

Аналитические показатели гемостаза у больных при артропластике до и после начала тромбопрофилактики дабигатраном

Срок обследования	Метод исследования				
	количество тромбоцитов, 10^9/л	концентрация фибриногена, г/л	активность антитромбина III, %	количество РФМК, мг/100 мл	уровень D-димеров, нг/мл
До операции (1)	230,3 ± 4,6	3,26 ± 0,07	110,8 ± 1,8	6,01 ±0,4	200,9 ±21,8
Через 5 дней (2)	206,3 ± 4,3*	4,72 ±0,12*	108,7 ± 1,71	12,6 ±0,67*	515,4 ± 75,3*
	P_{1-2} < 0,001	P_{1-2} < 0,001	P_{1-2} > 0,2	P_{1-2} < 0,001	P_{1-2} < 0,001
Через 10 дней	309,5 ± 11,8*	4,46 ±0,12*	106,5 ± 2,1	9,94 ± 0,6*	497,7 ± 47,2*
(3)	P_{1-3} < 0,001	P_{1-3} < 0,001	P_{1-3} > 0,1	P_{1-3} < 0,001	P_{1-3} < 0,001
Через 30 дней	н. д.	3,8 ± 0,13*	107,4 ± 1,71	9,44 ± 0,83*	395,6 ± 57,5*
(4)		P_{1-4} < 0,001	P_{1-4} > 0,1	P_{1-4} < 0,001	P_{1-4} < 0,001

Примечание. * - достоверность различий *($p_к$)* по сравнению с показателями в контроле не менее 0,05. Средний уровень D-димеров у практически здоровых людей *(n* = 30) 108,9 ± 11,5 нг/мл.

Среди исследованных показателей коагуляции тромбиновый и эхитоксовый тесты, а также АПТВ имели на фоне приема дабигатрана пролонгированное время свертывания (по средним данным, в 1,17-2,86 раза от контрольных величин). В наибольшей мере этот эффект был присущ методам, предусматривающим применение обычного тромбина или эхитокса. По механизму действия эхитокс активирует фактор II (протромбин), в результате чего образуется мейзотромбин (тромбин Ем). Последний в отличие от обычного а-тромбина не блокируется гепарином и комплексом «гепарин- антитромбин III» и способен свертывать не только обычный фибриноген, но и высокомолекулярные тромбинрезистентные его производные, так называемый остаточный, или сывороточный, фибриноген [1].

Время свертывания в протромбиновом и лебетоксовом тестах (с ядом гюрзы среднеазиатской - Vipera lebetina turanica) при приеме дабигатрана, напротив, практически не менялось, что соответствовало имеющимся литературным данным о действии данного лекарственного средства на параметры гемокоагуляции [14].

Определение других ведущих показателей системы гемостаза обозначило их известную реакцию на травму, не приводящую к венозному тромбозу или развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, поскольку выраженность снижения количества тромбоцитов и активности антитромбина III была минимальной (табл. 2), а повышение концентрации фибриногена и

Таблица 3

Влияние различного уровня D-димеров на показания коагуляционных тестов на 5-е и 10-е сутки послеоперационного периода при профилактическом применении дабигатрана

Метод исследования	Уровень D-димеров в плазме крови больных (диапазон концентрации, средние значения для диапазона *(X± m)*		
	5-е сутки после операции		
	до 300 нг/мл. 205,9 ± 21,8 нг/мл	300-600 нг/мл, 426,1 ± 15,6 нг/мл	> 600 нг/мл. 883,3 ± 74,9 нг/мл
Тромбиновый тест, *r*	2,37 ± 0,44	2,97 ±0,55	4,61 ±0,82*
Эхитоксовый тест, *r*	1,84 ± 0,19	2,02 ± 0,17	2,29 ±0,26
АПТВ, *r*	1,20 ±0,04	1,16 ±0,04	1,22 ±0,07
Протромбиновый тест, *r*	1,03 ± 0,03	0,99 ± 0,02	0,98 ± 0,06
Лебетоксовый тест, *r*	1,04 ± 0,05	1,03 ± 0,08	1,10 ±0,07
	10-е сутки после операции		
	до 300 нг/мл. 209,1 ±21,1 нг/мл	300-600 нг/мл, 475,0 ± 25,0 нг/мл	> 600 нг/мл. 900,0 ± 96,3 нг/мл
Тромбиновый тест, *r*	2,28 ±0,43	2,94 ± 0,48	3,53 ± 0,45**
Эхитоксовый тест, *r*	1,79 ± 0,28	1,6 ±0,15	1,47 ±0,22
АПТВ, *r*	1,14 ±0,04	1,19 ±0,04	1,23 ±0,06
Протромбиновый тест, *r*	1,02 ±0,03	0,99 ± 0,03	1,01 ±0,05
Лебетоксовый тест, *r*	0,86 ± 0,08	0,97 ±0,06	1,05 ± 0,06

Примечание. * - $p < 0,02$ гю сравнению с показателями у больных на 5-е сутки после операции, у которых уровень D-димеров не превышал 300 нг/мл; ** - $p < 0,05$ по сравнению с показателями у больных на 10-е сутки после операции, у которых содержание D-димеров не превышало 300 нг/мл.

РФМК в подавляющем (96,3%) числе случаев при дуплексном ангиосканировании не сопровождалось визуальной регистрацией тромбоза вен нижних конечностей.

Тем не менее наличие внутрисосудистого свертывания крови документировалось у больных повышением в послеоперационном периоде уровня D-димеров - маркеров состоявшегося фибринообразования и последующего фибринолиза. По средним величинам полученных нами данных количество D-димеров резко (в 2,56 раза) нарастало в 1-е сутки после операции и постепенно снижалось в дальнейшем, оставаясь выше нормальных значений спустя 1 мес после оперативного вмешательства.

По результатам проведенного анализа оказалось, что показатели некоторых коагуляционных тестов зависели не столько от приема дабигатрана, сколько от содержания в плазме крови больных D-димера (табл. 3). В частности, гипокоагуляция по тромбиновому тесту соответствовала степени повышения концентрации D-димеров как на 5-е, так и на 10-е сутки наблюдений на фоне приема одной и той же дозы (220 мг/сут) дабигатрана с коэффициентом корреляции Спирмена (г) 0,43 *(p* < 0,05). О влиянии продуктов деградации фибриногена и фибрина, D-димеров на тромбиновое время давно известно, что объяснялось ингибирующим действием продуктов фибринолиза на самосборку фибрин-мономеров [11].

В отличие от этого показания эхитоксового теста в значительно меньшей степени зависели от содержания D-димеров и в большей степени были связаны с антитромбиновым эффектом дабигатрана. Последнее может явиться основанием для выделения теста с использованием коагулазы яда эфы (эхитокс) как метода выбора для лабораторного мониторинга дабигатрана в условиях травмы и операции.

Таблица 4

Показатели коагуляционных тестов D-димеров у больных с тромбозами вен нижних конечностей (5-е сутки после операции)

Показатель гемостаза	Б-ная Н.	Б-ной В.
Тромбиновый тест	18,9 с (контроль 17,3 с): *r* = 1,09	52,1 с (контроль 17,1 с); *r* = 3,05
Эхитоксовый тест	33,2 с (контроль 30,4 с); *r* =1,10	32,5 с (контроль 28,2 с); *r* = 1,18
D-димеры	600 нг/мл	3500 нг/мл

С целью иллюстрации сказанного ниже приводятся результаты лабораторного обследования 2 больных, у которых на 5-е сутки после операции был выявлен неоклюзионный тромбоз глубоких вен нижних конечностей (табл. 4).

Из этих данных можно заключить, что сравниваемые коагуляционные тесты имели диаметрально противоположные результаты, которые, как выяснилось, были обусловлены низкой комплаентностью пациентов, негласно отказавшихся от приема дабигатрана. Эти больные немедленно были переведены на лечебные дозы эноксапарина, вводимые подкожно, что предотвратило более серьезные тромботические осложнения.

Заключение. Таким образом, среди имеющихся в лабораторном арсенале методов исследования тромбиновое время свертывания бедной тромбоцитами плазмы крови имеет максимальную чувствительность к эффектам дабигатрана, но оно в значительной мере зависит от активности фибринолитических реакций. Для отслеживания антикоагулянтной активности дабигатрана оптимальным является эхитоксовый тест прежде всего в клинических ситуациях с вероятным повышением уровня D-димеров. а также для выявления случаев негласного отказа пациентов от приема данного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баркаган З.С., Момот А.П.*Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М., 2008.
2. *Вавилова Т.В., Воробьева Ю.К., Крупоткина И.Г.* и др. //Клин. лаб. диагн. – 2009. - № 11. – С. 42-46.
3. *Момот А.П.* Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лаюораторной диагностики. – Спб., 2006.
4. *Момот А.П., Баркаган З.С.//* Клин. геронтол. – 2007. - №4. – С. 44-49.
5. Руководство по гематологии / под ред. А.И. Воробьева. – 3-е изд. – М., 2005. Т.3.
6. *Хорев Н.Г., Момот А.П., Залозный Д.А. //* Фарматека. – 2010. - № 18-19. – С. 20-26.
7. *Connolly J.,Ezekowitz. M., Yusuf S.*et al. // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 361. - P. 1139-1151.
8. *Geerts W. H., Pineo G. F., Heit H.A.* et al. // Chest. – 2008. – Vol. 133. – P. 384-453.
9. *Gross P., Weitz J.* // Clin. Pharmacol. – 2009. – Vol. 86. – P. 139-146.
10. *Russell D., Roger D., Bergqvist D.* // Clin. Appl. Thromb. Hemost. – 2009. – Vol. 15, N 4. – P. 377-388.
11. *Scheraga H. A.* // Molecular biology of fibrinogen a fibrin. – New York. 1983. – P. 330-343.
12. *Schulman S., Kearon C., Kakkar A.* et al. // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 361. – P. 2342-2352.
13. *Stangier J.* // Clin. Pharmacokinet. – 2008. – Vol. 47. – P. 285-295.
14. *Van Ryn J.*, Stangier J., Haertter S. et al. // Thromb. Haemost. – 2010. – Vol. 103, N 6. – P. 1116-1127.

© Коллектив авторов, 2011

ТРОМБОПРОФИЛАКТИКА ЭНОКСАПАРИНОМ И ДАБИГАТРАНОМ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

А. П. Момот, И.В. Меркулов, Е.В. Григорьева, М.Ю. Панов

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России; ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава;
ГУЗ Краевая клиническая больница, Барнаул

Проведена сравнительная оценка эффективности и безопасности тромбопрофилактики эноксапарином и дабигатраном после выполнения эндопротезирования тазобедренного сустава. Учитывались геморрагические и тромботические осложнения, показатели лабораторных тестов при мониторинге результатов использования нового орального ингибитора тромбина дабигатрана этексилата. Обследован 161 больной, оперированный под спинальной анестезией. Пациенты были рандомизированы и разделены на две группы. В 1-й группе (n=81) применялся эноксапарин подкожно в дозе 40 мг 1 раз в день, во 2-й группе (n=80) — дабигатран в дозе 220 мг/сутки. Накануне операции, на 5-е и 10-е сутки после артропластики выполнялись дуплексное ангиосканирование нижних конечностей и оценка параметров свертывания крови. Установлено, что результаты применения эноксапарина и дабигатрана близки по эффективности тромбопрофилактики при сравнительно большей интраоперационной кровопотере в случае использования низкомолекулярного гепарина. Уровень тромбогенной опасности в послеоперационном периоде (по уровню D-димеров) при использовании эноксапарина оказался выше, чем при применении дабигатрана. Пероральный способ применения антикоагулянтов при артропластике тазобедренного сустава более приемлем с учетом его неинвазивности, безопасности, низкой потребности в лабораторном мониторинге и удобства использования в амбулаторных условиях. В случае необходимости подтверждения факта приема дабигатрана при назначении его пациентам с низкой комплаентностью может быть использовано тестирование плазмы крови в тромбиновом или эхитоксовом тесте.

Ключевые слова: эндопротезирование тазобедренного сустава, тромбоз глубоких вен, медикаментозная тромбопрофилактика, дабигатрана этаксилат, эноксапарин, исследование гемостаза, D-димеры, комплаентность пациентов.

Enoxaparin and Dabigatran Thromboprophylaxis after Total Hip Arthroplasty

A.P. Momot, I. V Merkulov, E. V. Grigor'eva, M. Yu, Panov

Comparative assessment of the efficacy and safety of enoxaparin and dabigatran thromboprophylaxis after total hip arthroplasty was performed. Hemorrhagic and thrombotic complications as well as indices of laboratory tests after application of new oral thrombin inhibitor Dabigatran Etexilate were taken into account. Study included 161 patients who were randomized into two groups and operated on under spinal anesthesia. First group (81 patients) was on subcutaneous enoxaparin (40 mg/day), second group (80) was on dagibartan (200 mg/day). The day before surgery and on 5th and 10th days after arthroplasty duplex angioscanning of lower extremities and assessment of blood clotting parameters was performed. It was shown that in case of significant intraoperative blood loss thromboprophylaxis with both enoxaparin and dabigatran was similar to that with low-molecular-weight heparin. Postoperative thrombogenic risk by D-dimers level was higher with enoxaparin versus dabigatran application. Peroral use of anticoagulants is more acceptable due to its noninvasiveness, safety, low requirements in laboratory monitoring and convenience of application in out-patient conditions. In patients with low compliance testing of blood plasma thrombin can be used for the confirmation of dabigatran intake when necessary.

Key words: hip arthroplasty, deep vein thrombosis, drug thromboprophylaxis, dabigatran etexilate, enoxaparin, homeostasis, D-dimers, paient compliance.

Тотальное эндопротезирование тазобедренного и коленного суставов стало рутинной операцией, широко применяемой как в России, так и в мире, значительно улучшающей качество жизни больных. Ежегодно в мире выполняется более 1,5 млн. таких операций, что составляет примерно 75-80% от числа всех вмешательств в ортопедических клиниках. Одной из ведущих проблем при этом оказалось развитие тромбоза глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) в послеоперационном периоде [3, 10]. По данным Американской коллегии торакальных врачей [ACCP, 8-е изд., 2008], частота встречаемости дистального ТГВ при артропластике (без адекватной тромбопрофилактики) составляет от 40 до 80%, проксимального — от 10 до

20%, клинически значимой ТЭЛА — от 4 до 10%, смертельной ТЭЛА — от 0,2 до 5% [12]. Источником эмболии служит острый тромбоз в системе нижней полой вены [6]. Его формированию способствуют, как известно, стаз крови в венах нижних конечностей, повышенная способность крови к тромбообразованию (тромбофилия) и угнетение фибринолитической активности крови [5, 7]. В современных российских и международных стандартах для преодоления этой проблемы предусматривается использование средств, подавляющих свертывание крови — варфарина или различных низкомолекулярных гепаринов — НМГ (чаще эноксапарина) либо фондапаринукса [6, 12]. Наряду с этим получают распространение и новые оральные антикоагулянты — дабигатрана этексилат (ингибитор тромбина) и ривароксабан ингибитор фактора Xa), о преимуществах которых сообщается в ряде работ [8, 11, 13]. Один из этих препаратов — дабигатрана этексилат, прямо и с высокой специфичностью связывающий тромбин (рис. 1), не требующий рутинного лабораторного контроля [14] — после регистрации в РФ (сентябрь 2009 г.) широко используется в ортопедических клиниках страны.

В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка эффективности и безопасности тромбопрофилактики ТГВ и ТЭЛА эноксапарином и дабигатраном в период после проведения тотального эндопротезирования тазобедренного сустава. Учитывались частота и особенности геморрагических и тромботических осложнений, показатели лабораторных тестов при мониторировании действия нового орального ингибитора тромбина — дабигатрана этексилата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включен 161 больной (57 пациентов мужского и 104 женского пола, средний возраст 56,2±0,8 года), которым выполнялась тотальная артропластика тазобедренного сустава по цементной или бесцементной методике эндопротезами производства «Zimmer» (США) и «Osteal» (Франция). Критерии включения в исследование: плановая операция по полной односторонней замене тазобедренного сустава, возраст пациента старше 18 лет, масса тела не менее 40 кг. В качестве анестезиологического пособия использовалась спинальная анестезия.

Пациенты были рандомизированы и разделены на две группы: 81 больной (1-я группа) получал эноксапарин, 80 больных (2-я группа) — дабигатран (рис. 2). Эноксапарин вводился подкожно в дозе 40 мг 1 раз в день (первая инъекция за 12 ч до операции, вторая — через 12 ч после операции) в течение 10 дней. Дабигатран назначался per os

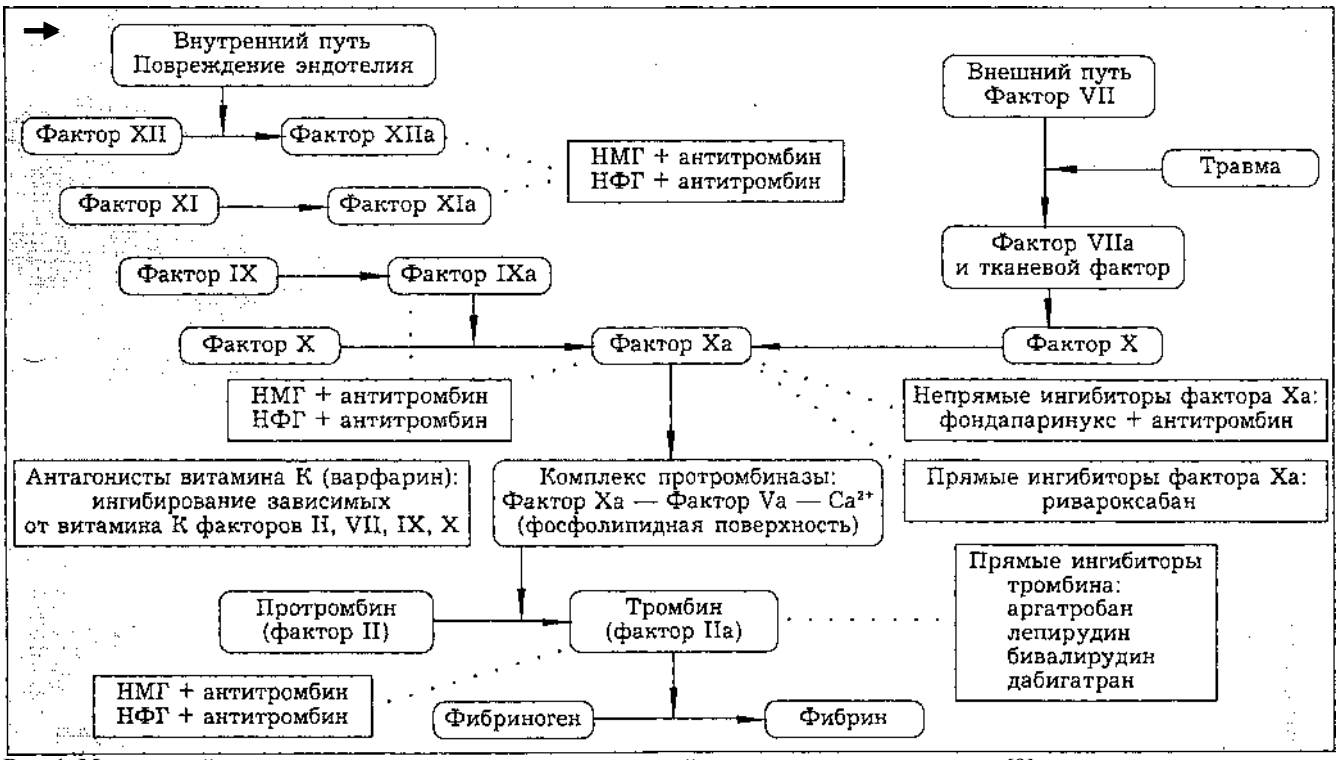


Рис. 1. Мишени действия антикоагулянтов на коагуляционный каскад свертывания крови [9].
Обозначения: НМГ — низкомолекулярный гепарин; НФГ — нефракционированный гепарин; Ca^{2+} — ионы кальция; « » — активация, «.....» — ингибирование.

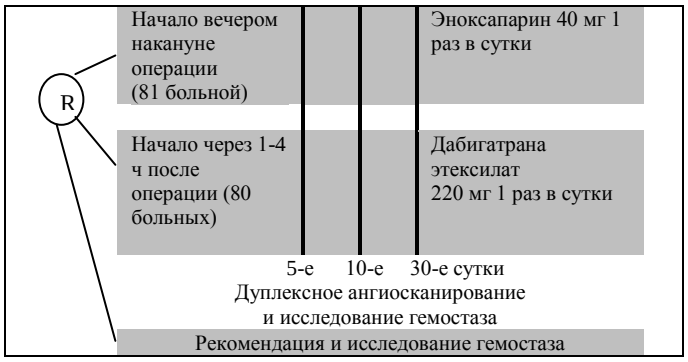


Рис. 2. Дизайн рандомизированного двойного исследования на эквивалентную эффективность.

в дозе 220 мг 1 раз в сутки (начиная с половинной дозы через 1-4 ч после операции) на протяжении 28-35 дней послеоперационного периода.

У всех больных до операции, на 5-е, 10-е и 30-е сутки после операции проводилось дуплексное ангиосканирование нижних конечностей. Лабораторное исследование системы гемостаза выполнялось накануне операции и в первые 10 сут после оперативного вмешательства. Исследование включало определение активированного парциального тром- бопластинового времени (АПТВ), протромбинового**,** тромбинового и эхитоксового времени свертывания (тест-системы производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия) на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 (Япония) в соответствии с имеющимися рекомендациями [1]. Наряду с этим оценивался уровень универсального маркера активации свертывания крови и состоявшегося фибринолиза – D-димеров (твердофазным иммунометрическим методом сэндвич-типа на оборудовании «NycoCard Rider», Норвегия).Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Microsoft Offis Exle 2003. Результаты исследования оценивались методом вариационной статистики с применением критерия Стьюдента (t) и критерия Фишера.

Показатели гемостаза у больных, перенесших эндопротезирование тазобедренного сустава, на фоне приема дабигтрана (M±m)

Срок исследования	Протромбиновое время, ratio	АПТВ, ratio	Эхитоксовое время, ratio	Тромбиновое время, ratio
До операции	1,05±0,02	1,07±0,01	1,15±0,04	1,15±0,04
После операции через 5 дней	1,05±0,01 $p > 0,5$	1,22±0,04 $p < 0,1$	2,04±0,13 $p < 0,001$	2,86±0,22 $p < 0,001$
через 10 дней	1,04±0,02 $p > 0,5$	1,17±0,03 $p < 0,01$	1,66±0,14 $p < 0,01$	2,70±0,22 $p < 0,001$
через 30 дней	0,99±0,03 $p > 0,1$	1,07±0,03 $p > 0,5$	1,10±0,03 $p > 0,2$	1,12±0,07 $p > 0,2$

П р и м е ч а н и е. Ratio – отношение времени свертывания в секундах в опытном (у больного) и контрольном (у практически здорового человека) образцах плазмы крови. *p* – достоверность различия со значением данного показателя до операции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравниваемые группы пациентов не имели достоверных различий по возрастно-половой структуре, наличию сопутствующих заболеваний, особенностям личного геморрагического и тромботического анамнеза. Объем кровопотери, связанной с операцией, при использовании эноксапарина был больше (в среднем 466,7±19,8 мл), чем при применении дабигатрана (405,2±20,4 мл; $p<0,05$), что объяснимо с учетом введения этого низкомолекулярного гепарина перед операцией. В послеоперационном периоде, когда объем кровопотери определялся по количеству собранной крови в активный дренаж на протяжении 3 сут, достоверных различий по этому показателю не отмечалось, объем потерянной крови составил 269,7±20,4 и 308,3±22,4 мл соответственно. При этом ни в одном наблюдении не было зафиксировано послеоперационной не дренированной гематомы.

В группе получавших НМГ переливание эритромассы использовалось в 12,3% случаев интра- операционно и в 18,5% случаев на протяжении первых 3 дней после операции. При профилактическом применении дабигатрана данное трансфузио- логическое пособие использовалось реже — соответственно в 3,8% ($p<0,05$) и 11,3% случаев. Другой компонент крови — свежезамороженная плазма был востребован со следующей частотой: при тром- бопрофилактике эноксапарином — в 1,4% случаев во время операции и в 2,7% в последующие 3 сут, при использовании дабигатрана — соответственно в 3,8 и 3,8% случаев. Препараты тромбоцитов в наших наблюдениях не применялись в связи с отсутствием показаний, приведенных в рекомендациях ведущих отечественных гематологов и нормативных документах [2, 4].

Исследование системы гемостаза выявило неодинаковые изменения показателей коагуляционных тестов в ответ на прием дабигатрана (см. таблицу). АПТВ, тромбиновый и эхитоксовый тесты имели пролонгированные показатели времени свертывания крови, и в наибольшей мере это относилось к тестам с использованием тромбина и эхитокса. В протромбиновом же тесте время свертывания, по средним значениям, практически не менялось, что соответствует данным литературы о влиянии этого прямого ингибитора тромбина на параметры коагуляции [15]. Следовательно, при необходимости мониторирования эффектов дабигатрана, например для исключения негласного отказа пациента от приема препарата, могут быть востребованы тесты с использованием тромбина или эхитокса. Более подробное обсуждение найденных по коагулограмме закономерностей планируется нами в последующих публикациях.

В период проведения тромбопрофилактики у 5 (6,2%) пациентов, получавших эноксапарин, и у 3 (3,8%) пациентов, получавших дабигатран, выявлен неоклюзионный ТГВ нижних конечностей, подтвержденный дуплексным ангиосканированием. В одном случае он локализовался в проксимальном отделе глубоких вен (бедренный сегмент), в 7 — в дистальном отделе (берцовый сегмент). Во всех случаях тромбоз был зарегистрирован лишь на 5-е сутки после операции. Клинических проявлений ТЭЛА не было ни у одного пациента. При верификации венозного тромбоза

на фоне приема дабигатрана больные были переведены на лечебные дозы эноксапарина курсом, рассчитанным на 10—14 дней.

При лабораторном мониторинге установлено, что на 5-е сутки после операции уровень D-диме- ров в плазме крови у больных, получавших дабигатран, был в 1,81 раза ниже, чем у получавшх эноксапарин, — соответственно 407,5±47,7 и 740,9±116,3 нг/мл (p<0,02). При этом в группе получавших оральный ингибитор тромбина этот показатель находился в диапазоне нормальных значений (до 300 нг/мл) у 45,5% больных, а в группе лечившихся НМГ — у 27,3%. На 10-е сутки наблюдений содержание D-димеров в плазме крови у

больных, лечившихся эноксапарином, составляло в среднем 530±65 нг/мл. В группе получавших дабигатран уровень D-димеров снизился в среднем до 377,2±72,0 нг/мл, а его нормальные значения определялись у 59% больных этой группы. В целом эти данные отражают меньшую интенсивность системного и локального фибринообразования после операции и приема орального антикоагулянта дабигатрана по сравнению с таковой при применении эноксапарина.

ВЫВОДЫ

1. Результаты применения эноксапарина и дабигатрана близки по эффективности тромбопрофилактики при сравнительно большей интраоперационной кровопотере в случае использования низкомолекулярного гепарина.

2. Уровень тромбогенной опасности в послеоперационном периоде при профилактическом использовании дабигатрана ниже, чем при применении эноксапарина.

3. Пероральный способ применения антикоагулянтов при эндопротезировании тазобедренного сустава представляется более приемлемым с учетом его неинвазивности, безопасности, низкой потребности в лабораторном мониторинге и удобства использования в амбулаторных условиях.

4. В случаях необходимости подтверждения факта приема дабигатрана при назначении его пациентам с низкой комплаентностью может быть использовано тестирование плазмы крови в тромбиновом или эхитоксовом тесте.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Баркаган З.С., Момот А.П.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М., 2008.
2. *Воробьев А.И., Городецкий В.М.* Трансфузионная терапия острой массивной кровопотери и анемии //Очерки по производственной и клинической трансфузиологии /Под ред. А.И. Воробьева. — М., .2006. С. 383-397.
3. *Копенкин* С.С. Профилактика венозных тромбоэмболических осложнений в ортопедической хирургии: новые возможности //Вестн. травматол. ортопед. — 2010. —N 1. —С. 35-38.
4. *Приказ Минздрава РФ* от 25 ноября 2002 г. № 363 «Об утверждении Инструкции по применению компонентов крови».
5. *Руководство по гематологии.* — Т. 3 /Под ред. А. И. Воробьева. — 3-е изд. — М., 2005.
6. *Савельев В.С., Чазов Е.И., Гусев Е.И. и др.* Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений //Флебология. — 2010. — Т. 4, вып. 2. — С. 3-37.
7. *Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др.* Флебология: Руководство для врачей /Под ред. А. С. Савельева. — М., 2001.
8. *Хорев Н.Г., Момот А.П., Залозный Д.А.* Новые оральные антикоагулянты (обзор литературы) //Фарматека. — 2010. — N 18/19. — С. 20-26.
9. *Abrams P.J., Emerson C.R.* Rivaroxaban: A novel, oral, direct factor Xa inhibitor //Pharmacotherapy. — 2009. — Vol. 29, N 2. — P. 167-181.
10. *Anderson F.A., Hirsh J., White K., Fitzgerald R.* Temporal trends in prevention of venous thromboembolism following primary total hip or knee arthroplasty 1996-2001: findings from the Hip and Knee Registry //Chest. — 2003. — N 124. — P. 349-356.
11. *Eriksson B.I., Dahl O.E., Rosencher N. et at.* Dabigatran etexilate versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total hip replacement: a randomized, double-blind, non-inferiority trial //Lancet. — 2007. — N 370. — P. 949-956.
12. *Geerts W.H., Pineo G.F., Heit H.A. et al.* Prevention of venous thromboembolism //Chest. — 2008. — N 133. — P. 381-453.
13. *Russell D., Roger D., Bergqvist D.* Assessing the safety profiles of new anticoagulants for major orthopedic surgery thromboprophylaxis //Clin. Appl. Thromb. Hemostasis. — 2009. — Vol. 15, N 4. — P. 377-388.
14. *StangierJ.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate //Clin. Pharmacokinet. — 2008. — Vol. 47. — P. 285-295.
15. *Van Ryn J., Slangier J., Haertter S. et al.* Dabigatran etexilate — a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity //Thrombosis and Haemostasis. — 2010. — Vol. 103. — N 6. — P. 1116-1127

Сведения об авторах: *Момот А.П.* – профессор, доктор мед. наук, руководитель Алтайского филиала Гематологического научного центра; *Меркулов И.В.* – доктор мед. наук, профессор кафедры анестезиологии и реанимации Алтайского ГМУ; *Григорьева Е.В.* – врач клинической лабораторной диагностики лаборатории патологии гемостаза Краевой клинической больницы Барнаула; *Панов М.Ю.* – врач анестезиолог- реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации той же больницы.

Для контактов: Момот Андрей Павлович. 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, дом 1. Тел./факс: 8 (3852) 689-800.
E-mail: xyzan@yandex.ru

ПРЕДИКТОРЫ РИСКА ТРОМБОТИЧЕСКИХ И АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ С МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ

УДК 616-007.17+616.1+618.2

Е. Г. Кудинова[1], И. В. Лыдина[1,2], И. А. Тараненко[1,3], В. А. Елыкомов[1,2], А. П. Момот[1,3]

[1] - **ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоц- развития России, г. Барнаул**
[2] - **КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул**
[3] - **Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**

Изучено течение беременности у 620 жительниц Алтайского края. Установлено, что пациентки с недифференцированными формами мезенхимальной дисплазии (МД) имеют высокую частоту (13,3%) тромботических осложнений во время беременности на фоне носительства тромбогенных ДНК-полиморфизмов. Для выяснения основных механизмов формирования тромбогенных событий во время беременности проведено исследование сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного гемостаза у 365 беременных с МД и в группе сравнения - у 245 беременных без признаков МД. Показано, что, эндогенный тромбиновый потенциал у беременных с МД на начальных сроках беременности выше, а к окончанию беременности имеет более низкие значения, чем у беременных без признаков МД. При этом конечный этап свертывания крови при МД характеризуется двумя вариантами течения: увеличением времени самосборки фибрин-мономеров или укорочением этого времени. Обоснованная и своевременная медикаментозная терапия с учетом показателей теста генерации тромбина и конечного этапа свертывания позволит снизить риск тромботических осложнений у беременных с МД.

Ключевые слова: мезенхимальная дисплазия, тромботические осложнения, беременные, фибрин-мономер, тест генерации тромбина

Pregnancy of 620 women living in the Altai region was studied. It was found that patients with undifferentiated mesenchymal dysplasia (MD) forms have a high frequency (13.3%) of thrombotic complications during pregnancy with thrombogenic carrier DNA polymorphisms. To elucidate the basic mechanisms of thrombogenic events during pregnancy the study of vascular-platelet and plasma coagulation hemostasis of 365 pregnant women with MD and for comparison in 245 pregnant women with no signs of MD was made. It is shown that the endogenous thrombin potential of pregnant women with MD in the early stages of pregnancy is higher, and by the end of pregnancy has a lower value than of pregnant women without evidence of MD. In this case, the final stage of the blood coagulation of patients with MD is characterized by two variants of the course: an increase in self-assembly time of fibrin monomers and shortening this time. Reasonable and timely medicamentary therapy based on indicators of thrombin generation test and the final stage of coagulation of pregnant women with MD will reduce the risk of thrombotic obstetric complications.

Key words: mesenchimal dysplasia, thrombotic complications, pregnant women, fibrin monomers, thrombin generation test

Гемокоагуляционный каскад включает в себя сбалансированную систему процессов, обеспечивающих агрегацию тромбоцитов, образование фибринового сгустка и в последующем его растворение. Конечным этапом свертывания крови является трансформация фибриногена под действием тромбина в фибрин-мономер, растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК). Тромбин, образующийся на месте экспрессии тканевого фактора, важен для преобразования фибриногена, ведущего субстрата свертывания, в фибрин. Это позволяет останавливать кровотечение во взаимодействии с тромбоцитами и другими клетками крови в непосредственной близости от поврежденного сосуда [1]. Кроме того, тромбин задействован в активации тромбоцитов, фактора XIII и протеина С, в том числе и для стимуляции клеточных реакций, ответственных за распространение повреждения и репаративные процессы в тканях [2].

Как известно, к акушерским тромботическим осложнениям относятся неразвивающаяся беременность, гестоз, декомпенсированные формы плацентарной недостаточности с формированием задержки развития плода. На фоне повышенной тромбогенности крови у таких пациенток может произойти срыв адаптации системы гемостаза, и

тогда клинически такие состояния способны проявиться во время беременности угрозой самопроизвольного выкидыша с формированием ретрохориальной гематомы, преждевременной отслойкой плаценты и кровотечениями в родах.

Сочетание мезенхимальной дисплазии (МД) с геморрагическим синдромом считается закономерностью, а нарушения гемостаза при этом характеризуются не только патологией стенок кровеносных сосудов (чаще всего телеангиэктазиями) и дисфункцией тромбоцитов, но и дефицитом фактора Виллебранда, нарушениями конечного этапа свертывания крови, обусловленного замедлением самосборки фибрин-мономеров, либо комбинированными видами этих патологических сдвигов в системе гемостаза [3]. В то же время рядом авторов Алтайской школы клинической гемостазиологии установлена связь МД с предрасположенностью к тромбозам [4]. У таких пациентов проявления ангиодисплазии могут сочетаться с активацией тромбоцитов, резистентностью Va-фактора к активированному протеину С, гипергомоцистеинемией, антифосфолипидным синдромом или комбинированными нарушениями в системе гемостаза. Не изучена и встречаемость известных тромбогенных мутаций и полиморфизмов при МД. Отметим, что предрасположенность к тромботическим осложнениям при беременности реализуется высокой частотой материнской заболеваемости, инвалидности и смертности [5]. В свою очередь, немаловажную роль в выявлении тромботической готовности у беременных могут иметь новые глобальные методы исследования системы гемостаза - тест генерации тромбина (ТГТ) [6] и определение времени самосборки фибрин-мономеров.

Целью исследования явилось изучение предикторов формирования тромботических и акушерских осложнений беременности у пациенток с мезенхимальной дисплазией.

Материалы и методы исследования

Нами проведено исследование показателей коагуляционного гемостаза у 180 беременных с признаками МД и нарушениями менструального цикла (НМЦ) в анамнезе (1-я группа), 185 беременных с МД и физиологическим ритмом менструаций (ФРМ) в анамнезе (2-я группа), 130 беременных без МД и с ФРМ, составивших 3-ю группу, 115 беременных без МД и с НМЦ, вошедших в 4-ю группу наблюдения. Кроме того, изучено течение беременности, родов и послеродового периода на основе «Индивидуальных карт беременной и родильницы» (учетная форма № 111), данных акушерского стационара на основе «Обменно-уведомительной карты беременной и родильницы» (учетная форма № 113) у 620 женщин. Беременные обследовались и консультировались в Алтайском филиале Гематологического научного центра на базе КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая больница» г. Барнаула.

В исследование включались в том числе беременные с клиническими признаками МД. Критерии исключения: женщины с аномалиями развития репродуктивных органов, пациентки с синдромом поликистозных яичников и хромосомными нарушениями. Рандомизация групп осуществлялась по возрасту. Все беременные на момент обследования не получали медикаментозную тромбопрофи- лактику (антиагреганты, трансдермальные и инъ- екционные формы гепарина).

Научно-исследовательский проект утвержден 30.11.2009 г. (протокол № 10) и соответствовал этическим стандартам локального биоэтического комитета при ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Изучение показателей системы гемостаза проводилось в I (6-13 недель), II (14-26 недель) и III (27- 40 недель) триместрах беременности. Взятие венозной крови осуществлялось из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 мин. при комнатной температуре. Для исследования агрегации тромбоцитов получали богатую тромбоцитами плазму после центрифугирования крови при 160 g в течение 7 мин.

Измерение эндогенного тромбинового потенциала проводилось с помощью ТГТ, который с высокой точностью измеряет динамику как образования, так и инактивации тромбина. В работе для выполнения данного метода использовался флюориметр Fluoroskan Ascent ThermoFisher SCIENTIFIC (Финляндия) с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Коагуляция исследуемой плазмы крови осуществлялась в присутствии 5 пмоль тканевого фактора и 4 мкмоль фосфолипидов. Учитывались следующие показатели: ETP (эндогенный тромбиновый потенциал, нмоль×мин.), рассчитывающий площадь под кривой генерации тромбина, учитывающей особенности инактивации этого фермента, Peak thrombin, нмоль/л (пиковая концентрация тромбина, нмоль/л) - максимальная концентрация тромбина в единицу времени, Lag time (время запаздывания, мин.), Time to peak/tt Peak (время достижения пика тромбина, мин.), и Start tail (время окончания генерации тромбина, мин.).

Определение маркеров тромбинемии проводилось по уровню растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в тесте с орто-фенантролином [7].

Определение времени самосборки фибрин-мономеров для распознавания нарушений на конечном этапе свертывания производилось в соответствии с описанием в руководстве А. П. Момота и соавт. [1].

Исследование плазменно-коагуляционного гемостаза проведено на автоматическом коагуло- метре Sysmex CA-1500 с использованием набора реагентов фирмы Simens/Dade Behring. Оценка агрегационной функции тромбоцитов выполнялась с помощью агрегометра «Биола - 230LA» (Россия) с применением в качестве агонистов агрегации АДФ, адреналина и коллагена (реагенты фирмы «Технология - Стандарт», Россия).

Определение мутаций и полиморфизмов генов, предрасполагающих к тромбозу, выполнялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на оборудовании ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия). В их числе определялось носительство мутаций F5 Лейден (1691G>A), FII (20210G>A), полиморфизмов гена MTHFR (C677>T) и гена ингибитора активатора плазминогена PAI 1 (5G>4G).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета компьютерных программ Statistic 6,0. Использовался дисперсионный анализ для проверки статистических гипотез. Применялся парный двухвыборочный t-тест для

средних. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me), выявлялись средние значения признака (M), среднеквадратичное отклонение (SD), достоверность различий определялась по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При изучении клинического течения беременности у женщин 1-й и 2-й групп с недифференцированными формами МД уже при первой беременности выявлена высокая частота венозной недостаточности нижних конечностей (13,0%), а также отдельные случаи флеботромбоза (1,1%), возникшие у них во время гестации. Каждая третья пациентка 1-й и 2-й групп имела синдром вегетативной дисфункции, который рассматривается сегодня как компонент диспластического фенотипа [8]; торакодиафрагмальный синдром в виде деформаций грудной клетки, позвоночника (сколиозы, кифосколиозы, гиперлордозы); нарушения органов зрения (астигматизм, миопия). Среднее значение выраженности недифференцированных признаков МД у пациенток в 1-й и 2-й группах соответствовало 8,84 ± 2,78 балла и 8,12 ± 2,88 балла при оценке критериев ДСТ по Л. В. Адамян, Т. Ю. Смольновой [10] и расценивалось в соответствии со шкалой как легкая степень проявлений дисплазии соединительной ткани (до 9 баллов).

У пациенток с недифференцированными формами МД по критерию Фишера установлено более частое носительство аллельных полиморфизмов протромботической направленности (табл. 1) по сравнению с этим же показателем в 3-й и 4-й группах.

таблица 1

Аллельные мутации и полиморфизмы, обуславливающие склонность к тромбозам у беременных в зависимости от наличия недифференцированных форм мезенхимальной дисплазии

Частота встречаемости аллельных полиморфизмов	1-я группа (n = 89)	2-я группа (n = 38)	3-я группа (n = 31)	4-я группа (n = 16)	Достоверность различий между группами P
Полиморфизм MTHFR (677T), %: а) гетерозигота	64,0	50,0	54,8	37,5	$P_{1-3} < 0,0001$ $P_{1-4} < 0,04$
б) патологическая гомозигота	5,6	0	0	0	н. д.
Всего полиморфизм MTHFR, %	69,7	50,0	54,8	37,5	$P_{1-2} < 0,03$ $P_{1-3} < 0,0001$ $P_{1-4} < 0,04$
Полиморфизм PA1-1 (-675 5G/4G), %: а) гетерозигота	49,4	50,0	35,5	62,5	н. д.
б) патологическая гомозигота	20,3	23,7	19,4	12,5	н. д.
Всего полиморфизм PAI-1, %	69,7	73,7	54,8	75,0	н. д.
Фактор V Лейден (Arg506Gln), %: а) гетерозигота	4,5	0	6,5	0	н. д.
б) патологическая гомозигота	11,2	0	0	0	н. д.
Всего мутации фактора V Лейден (гетеро/гомозигота)	15,7	0	6,5	0	н. д.
Фактор II (G20210A), % гетерозигота	5,6	0	0	6,3	н. д.
Один генетический дефект, %	37,1	55,3	38,7	68,8	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-4} < 0,01$
Два и более генетических дефектов	53,9	42,1	35,5	18,7	$P_{1-4} < 0,01$
Нормозиготы, %	9,0	2,6	25,8	12,5	$P_{1-3} < 0,01$ $P_{2-3} < 0,005$
Частота тромбогенных аллельных полиморфизмов, %	91,0	97,4	74,2	87,5	$P_{1-3} < 0,01$ $P_{2-3} < 0,005$

У 13,3% женщин с МД из 1-й группы наблюдалось осложненное течение беременности в виде наклонности к тромбозам (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, замершая беременность, угроза выкидыша с формированием субхорионической гематомы). В результате проведенного исследования установлено, что половина пациенток 1-й группы были носителями нескольких аллельных полиморфизмов, предрасполагающих к тромбозу, что определяет, по современным представлениям [1; 3], отнесение их в группу высокого тромбогенного риска. При этом отсутствие искомых аллельных полиморфизмов в 3 раза чаще выявлено у женщин, не имеющих признаков МД.

В ходе анализа беременности установлено, что более половины пациенток 1-й и 2-й групп ($p < 0,0001$) на фоне отягощенного акушерского анамнеза и разнонаправленных соматических заболеваний имели фетоплацентарную компенсированную недостаточность (55,9 и 42,6%) в сравнении с пациентками 3-й и 4-й групп соответственно (15,5 и 28,3%). У каждой пятой женщины с признаками МД и НМЦ наблюдались суб- или декомпенсированные формы плацентарной недостаточности, нарушение кровообращения в маточно-плацентарном русле

и рождение маловесных для срока беременности детей с признаками гипоксии (показатели в 1—4-й группах соответственно 18,0, 6,1, 3, 0%). Установлено, что в 1-й группе беременность завершилась родами с перинатальными потерями в 1,6% случаев (антенатальная гибель плода - 0,8%; неонатальные потери - 0,8%), в других группах же беременность протекала без перинатальных потерь.

С целью выявления иных потенциальных предикторов тромботических осложнений беременности изучена динамика показателей агрегации тромбоцитов, уровня тромбинемии в I, II и III триместрах, особенностей конечного этапа свертывания крови (времени самосборки фибрин-мономеров) и генерации тромбина у женщин в зависимости от наличия у них недифференцированных признаков МД.

При исследовании функции тромбоцитов у пациенток с мезенхимальной дисплазией в 1-й и 2-й группах выявлено увеличение агрегационной активности тромбоцитов в ответ на добавление коллагена (рис. 1, табл. 2) в сравнении с пациентками без признаков МД в 3-й и 4-й группах.

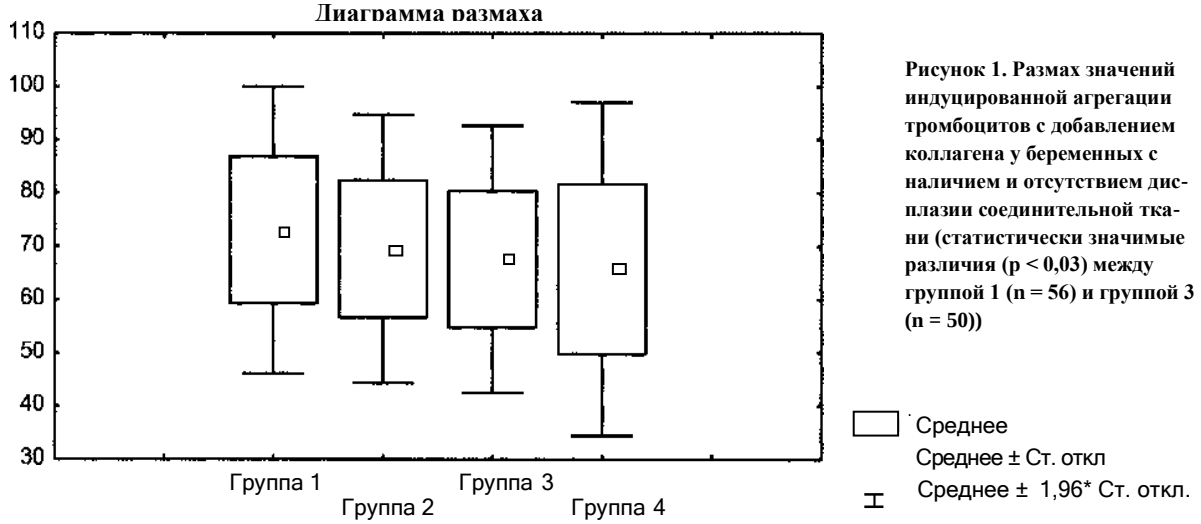


Рисунок 1. Размах значений индуцированной агрегации тромбоцитов с добавлением коллагена у беременных с наличием и отсутствием дисплазии соединительной ткани (статистически значимые различия (p < 0,03) между группой 1 (n = 56) и группой 3 (n = 50))

Сходная тенденция наблюдалась и по результатам оценки спонтанной агрегации тромбоцитов, а также агрегации, вызванной адреналином. Эти показатели с повышенными значениями также чаще всего определялись у пациенток с МД в сравнении с беременными, не имевшими признаков МД (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика агрегационной активности тромбоцитов у беременных в

Характеристика агрегации тромбоцитов при агрегометрии	**1-я группа (n = 23), %**	**2-я группа (n = 37), %**	**3-я группа (n = 14), %**	**4-я группа (n = 9), %**	**Достоверность различий (P)**
Спонтанная агрегация					
1,0-1,2 отн.ед.	73,9	73,0	100	100	P1-3 < 0,04
1,3-1,4 отн. ед.	26,1	27,0	0	0	P2-3 < 0,03
Характеристика агрегации тромбоцитов при агрегометрии	**1-я группа (n = 71), %**	**2-я группа (n = 82), %**	**3-я группа (n = 57), %**	**4-я группа (n = 16), %**	
Агрегация с добавлением АДФ 2,0 х 10^-5 М, %					
< 70	42,2	21,9	33,3	43,7	P1-2 < 0,007
70-80	29,6	48,8	40,4	37,5	P1-2 < 0,01
> 80	28,2	29,3	26,3	18,8	н.д.
Агрегация с добавлением адреналина х10 мкг/ мл, %					
< 70	66,2	67,1	73,7	93,7	P1-2 < 0,03
70-80	12,7	23,2	15,8	6,3	P2-4 < 0,03
> 80	21,1	9,7	10,5	0	P1-4 < 0,04
Характеристика агрегации тромбоцитов при агрегометрии	**1-я группа (n = 56), %**	**2-я группа (n = 70), %**	**3-я группа (n = 50), %**	**4-я группа (n = 12), %**	
Агрегация с добавлением коллагена, % <70	39,3	51,4	58,0	58,3	P1-3 <0,05
70-80	39,3	22,9	26,0	25,0	P1-2 <0,04
> 80	21,4	25,7	16,0	16,7	н.д.

Важную роль в формировании состояния тромботической готовности имеет избыточная генерация тромбина - ключевого фермента гемокоагуляции, особенности образования которого решающим образом сказываются на исходах гемостатических и воспалительных реакций [1; 6; 10; 12; 13]. Наши исследования показали значительное увеличение эндогенного тромбинового потенциала (ETP) у женщин с МД в ранние сроки гестации в сравнении с данными, полученными у беременных без признаков МД (табл. 3). Интересно, что в последующем при увеличении срока вынашивания беременности этот показатель у женщин с МД значительно снижался, а у пациенток без МД - увеличивался. Другой показатель теста генерации тромбина, Peak thrombin, примерно в той же степени отражал описанные выше тенденции.

Таблица 3

Характеристика генерации тромбина у беременных в зависимости от наличия или отсутствия недифференцированных форм мезенхимальной дисплазии

Показатель (M ± SD)	Пациентки с МД	Пациентки без МД	Достоверность различий (P)
ETP, нмоль×мин I триместр	1949,8 ±481,02 (n= 9)	1468,2 ±379,6 (n = 10)	P1-2 < 0,02
ETP, нмоль×мин II триместр	1675,22 ±483,18 (n = 9)	1589,65 ±632,38 (n = 10)	**н.д.**
ETP, нмоль×мин III триместр	1581,0 ±568,5 (n = 12)	2277,83 ±426,8 (n = 6)	P1-2 < 0,01
Peak thrombin, нмоль/л I триместр	344,36 ±97,46 (n = 9)	330,5 ±70,56 (n = 10)	**н.д.**
Peak thrombin, нмоль/л II триместр	337,93 ±100,15 (n = 9)	349,55 ±86,73 (n = 10)	н. д.
Peak thrombin, нмоль/л III триместр	342,44±59,86 (n = 12).	414,70 ±91,58 (n = 6)	P1-2 < 0,05

Известно, что при тромбинемии и активации свертывания крови происходит расслоение фибриногенового пула в плазме крови с появлением фракции высокомолекулярных производных фибриногена - растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) [10; 13; 14]. В наших наблюдениях в плазме каждой третьей беременной с МД определялся повышенный уровень РФМК в сравнении с пациентками без признаков МД (рис. 2).

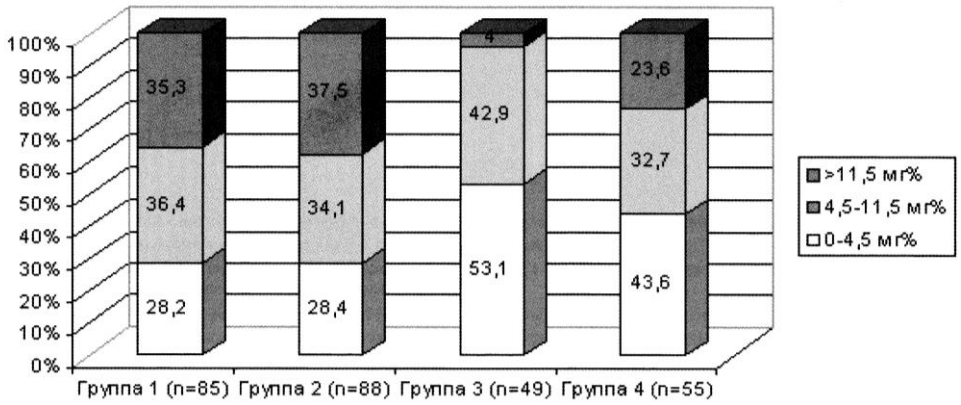


Рисунок 2. Содержание РФМК в плазме (по орто-фенантролиновому тесту) в исследуемых группах женщин во время беременности

Недавно была описана и доказана связь тромбоза с уменьшением времени самосборки фибрин-мономеров в плазме крови по методу, предложенному И. А. Тараненко и соавт. [1]. При этом необходимо принять во внимание, что мезенхимальная дисплазия обычно сопровождается замедлением полимеризации фибрин-мономеров, что объясняется сопутствующей врожденной дисфибриногенемией [4; 10].

В каждом втором случае при беременности и МД найдено укорочение данного показателя, свидетельствующее о повышенной тромботической готовности на фоне беременности (рис. 3).

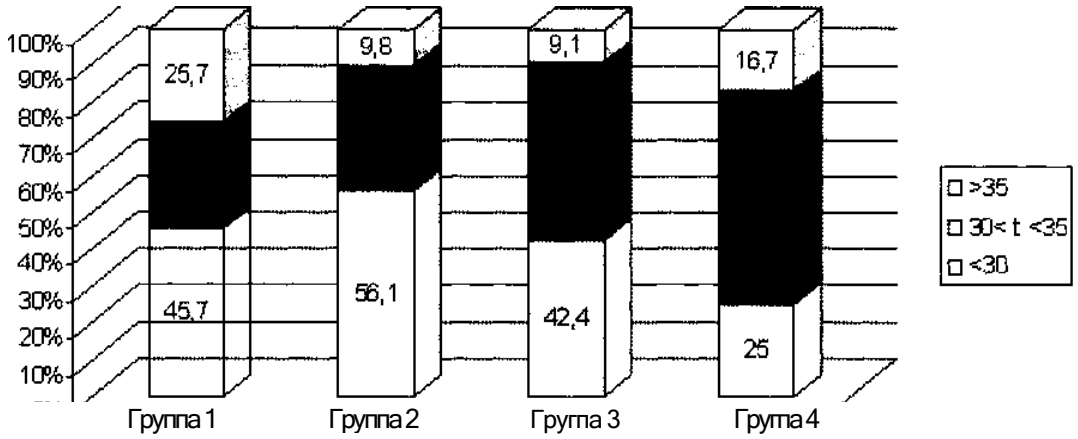


Рисунок 3. Доля пациенток групп сравнения, имеющих показатели времени самосборки фибрин-мономеров (t-секунды) во время беременности

Таким образом, определено, что женщины с недифференцированными формами мезенхимальной дисплазии при вынашивании беременности имеют повышенную вероятность развития фетоплацентарной недостаточности, нарушения кровообращения в маточно-плацентарном кровотоке, рождения маловесных детей с признаками гипоксии, перинатальных потерь в сравнении с пациентками без данной патологии. Эти женщины детерминированы к развитию тромбоза и/или синдрома потери плода в ранние сроки беременности, хотя и должны быть отнесены в группу риска по развитию массивных акушерских кровотечений при родоразрешении. В число маркеров состояния тромботической готовности у пациенток с дисплазией соединительной ткани могут быть отнесены проявления тромбинемии (избыточная генерация тромбина и РФМК), гиперагрегация тромбоцитов (спонтанная, в присутствии коллагена или адреналина), а также ускорение самосборки фибрин-мономеров плазмы крови

Заключение

Проведенное исследование позволяет обосновывать необходимость проведения тромбопрофи- лактики с ранних сроков беременности у женщин, страдающих мезенхимальной дисплазией, что важно для снижения числа осложнений во время беременности и родов

Список литературы

1. Момот, А. П. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности / А. П. Момот, Л. П. Цывкина, И. А. Тараненко и др./ под научн. ред. А. П. Момота. - Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета, 2011. -138 с.
2. Шойхет, Я. Н. 0 роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей / Я. Н. Шойхет, А. П. Момот // Проблемы клинической медицины. -2008.-№4 (16).-С. 102-116.
3. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2001. - 296 с.
4. Суханова, Г. А. Тромботические мезенхимальные дисплазии и их связь с другими тромбофилиями / Г. А. Суханова, З. С. Баркаган, Е. Ф. Котовщикова // Гематология и трансфузиология. - 2003. - № 6. - С. 13-14.
5. Practical hemostasis and thrombosis / ed. by D. 0. Shaughnessy, M. Makris, D. Lillicrap. - Blackwell Publishing Ltd, 2005. - 224 p.
6. Radziwon, P. Platelet activation and its role in thrombin generation in platelet- induced thrombin generation time / P. Radziwon, B. Boczkowska-Radziwon, J. F. Schenk et al. // Thromb Res. - 2000. - Vol. 100, № 5. - P. 419 - 426.
7. Момот, А. П. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста / А. П. Момот, В. А. Елыкомов, З. С. Баркаган //
8. Клиническая лабораторная диагностика. -1996. - № 4. - С. 17-20
9. Нечаева, Г. И. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов / Г. И. Нечаева, И. А. Викторова. - Омск: БЛАНКОМ, 2007. - С. 180-188.

2003, Уварова Е. В. Дифференцированный подход к диагностике и лечению дисменореи у девушек. / Е. В. Уварова, И. Г. Гайнова // Гинекология. - №4-С. 23-25.

10. Баркаган, З. С. Геморрагические заболевания и синдромы / З. С. Баркаган. - М.: Медицина. -1988. - 526 с.
11. Mcintosh, J. H. A modified thrombin generation test for the measurement of factor VIII concentrates / J. H. Mcintosh, D. Owens, C. A. Lee et al. // J Thromb Haemost. - 2003. - Vol. 1, № 5. - P. 1005-1011.
12. Cvirn, G. Effects of antithrombin and protein C on thrombin generation in newborn and adult plasma. / G. Cvirn, S. Gallistl, W. Muntean // Thromb Res. - 1999.-Vol. 93.-P. 183-190.
13. Момот, А. П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиниколабораторной диагностики / А. П. Момот. - СПб.: Форма-Т, 2006. - 209 с.

2004. Сидельникова, В. М. Механизмы адаптации и дезадаптации гемостаза при беременности / В. М. Сидельникова, Р. Г. Шмаков. - М.: Триада-Х, 2004. – 192 с

Е.В. Уварова[1], Е.Г. Кудинова[2], А.П. Момот[2]

[1] ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Росмедтехнологий», Москва
[2] ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава», Барнаул

Для корреспонденции

Кудинова Евгения Геннадьевна - кандидат медицинских наук, докторант кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС Алтайского государственного медицинского университета (Барнаул)Адрес: 656038, г, Барнаул, пр. Ленина, д. 40
Телефон: (3852) 36-88-48
E- mail: kudinaite@mail.ru

Характеристика течения ранних сроков беременности у молодых женщин с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани

Проанализирована частота клинических проявлений угрозы прерывания беременности в ранние сроки у женщин с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Выявлена взаимосвязь акушерского анамнеза пациенток с ДСТ с тромботическим семейным анамнезом родственников. Определена частота тромбогенных ДНК-полиморфизмов у женщин групп сравнения. Ранние сроки беременности у женщин с недифференцированными формами ДСТ, сопряженными с генетическими дефектами в системе гемостаза, протекают по варианту тромботической мезенхимальной дисплазии.
Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, менструально-овариальная дисфункция, тромбофилия

E.V. Uvarova[1], E.G. Kudinova[2], A.P. Momot[2]
[1]The Kulakov Obstertrics, Gynecology and Perinatology Research Center, Moscow
[2]Altai State Medical University, Barnaul

The course of early stages of pregnancy in young women with undifferentiated forms of connective tissue dysplasia

The paper presents the analysis of freqtiehcyof abortion threat clinical manifestations in early stages of pregnancy in women with undiferenti ated forms of connective tissue dysplasia (CTD). Interrelation between CTD women obstetrics history and thfombotic family history is revealed. Frequency of thrombogenic DNA polymorphisms in control groups' women is determined. Thrombotic mesenchymal dysplasia Is typical for early, stages of pregnancy In women with undifferentiated forms of CTD attended by hemostasis system genetic defects.
Key words: connective tissue dysplasia, menstrual-ovarian dysfunction, thrombophilia

Многообразие и разнообразное сочетание клинических симптомов и синдромов при дисплазии соединительной ткани (ДСТ) связано с наличием соединительной ткани во всех органах. Она составляет более 50% массы тела, образует опорный каркас (скелет - хрящевая и костная ткань) и наружные покровы (дерму), а также является составной частью всех органов и тканей, формирует вместе с кровью и лимфой внутреннюю среду организма, которая принимает участие в обмене веществ организма [5, 6, 11]. По данным ряда авторов [3, 6, 7, 10, 18], наибольшую опасность у пациенток с мезенхимальными дисплазиями во время беременности представляют нарушение структуры соединительно-тканного компонента стенок сосудов и возникновение тромбоге- моррагических осложнений. Это происходит вследствие гемодинамических (увеличения объема циркулирующей крови и сердечного выброса), гормональных (воздействие эстрогенов и прогестерона) эффектов на стенки патологически измененных сосудов и эндотелиально-гемостазиологических нарушений. Частота недифференцированных признаков дисплазии соединительной ткани у беременных женщин в России в различных регионах наблюдается в 17-43% случаев, а в некоторых исследованиях - до 80% [6,7,9,14]. Рассматривая признаки ДСТ с легкими или умеренными функциональными изменениями, ряд авторов [6, 11, 14] прогнозируют небольшой риск осложнений. К ним отнесены вегетативная дисфункция, пролапсы клапанов без миксоматозной дегенерации, метаболическая кардиомиопатия I степени, нарушение сердечного ритма, синусовая тахикардия, единичные желудочковые экстрасистолы, трахеобронхиальная дискинезия, флебопатии, дискинезии желудочно-кишечного тракта. Этот диагноз требует регулярного наблюдения больного и может оставаться стабильным в течение многих лет.

Проблема вынашивания беременности у женщин с недифференцированными формами ДСТ остается актуальной в настоящее время. Формирование и реализация репродуктивного здоровья происходят у них на фоне генетически предопределенной «слабости» соединительной ткани и усугубляются высокой частотой эндотелиально-гемостазиологических и нейроэндокринных нарушений, приводящих к развитию плацентарной недостаточности [1. 5, 9, 15]. Первым симптомом несостоятельности репродуктивного здоровья таких пациенток является течение пубертатного периода по типу нарушений менструального цикла, которое, по мнению ряда авторов, в последующем реализуется в гестационные осложнения [8,12,13,16,17]. Имеются данные о сочетании врожденных аномалий соединительной ткани и дисфункции иммунной системы, приводящих к развитию рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваний во время беременности [6, 7]. Степень выраженности диспластико-зависимых изменений, зависящих от дефектов развития рыхлой и твердой соединительной ткани в органах и системах, определяет прогноз течения заболеваний. Отмечена связь врожденных дефектов соединительной ткани с нарушениями тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, проявляющимися различными типами кровоточивости [3, 5, 10]. Сочетание мезенхимальных дисплазий с геморрагическим синдромом закономерно, а нарушения гемостаза могут характеризоваться не только патологией стенок кровеносных сосудов - телеангиэктазиями - и дисфункцией тромбоцитов, но и дефицитом фактора Виллебранда, нарушениями конечного этапа свертывания крови, чаще всего обусловленного замедлением самосборки фибрин-мономеров, либо комбинированными видами этих патологических сдвигов в системе гемостаза. В то же время рядом авторов [4, 5, 10, 14, 15] установлена связь мезенхимальных дисплазий с гематогенными тромбофилиями. В этих случаях у пациентов наряду с ангиодисплазиями имеются сочетания с гиперагрегационным синдромом, резистентностью Va фактора к активированному протеину С, гипер- гомоцистеинемией, антифосфолипидным синдромом или комбинированными нарушениями в системе гемостаза. Недоучет геморрагического или тромботического анамнеза и несвоевременная диагностика нарушений в системе гемостаза могут служить причиной тяжелых осложнений у беременных с недифференцированными формами ДСТ.

Целью исследования явилось изучение особенностей течения ранних сроков беременности у молодых женщин, имеющих недифференцированные формы ДСТ, сопряженные с патологией системы гемостаза.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 620 беременных женщин в возрасте 15-24 лет со сроком беременности 9-10 нед. В зависимости от особенностей становления менструального цикла в пубертатном периоде, наличия или отсутствия недифференцированных форм ДСТ (нДСТ) пациентки были разделены на 4 группы.

В 1-ю группу были включены 245 пациенток с нДСТ и нарушением менструального цикла в пубертатном периоде (НМЦ ПП). Во 2-ю группу были отобраны 60 пациенток без признаков нДСТ и НМЦ ПП. В 3-й группе оказались 115 пациенток с нДСТ и с физиологическим становлением менструального цикла в пубертатном периоде. 4-ю группу составили 200 пациенток без нДСТ и с физиологическим становлением ритма менструаций в пубертатном периоде,

Все женщины проживали в сельской местности на территории Алтайского края.

Для суммарной оценки проявления нДСТ была

использована шкала Е.В. Уваровой и соавт. Лабораторная диагностика гормональных параметров проводилась в 9-10 нед беременности с использованием методов иммунохимии в отделе лабораторных исследований КГУЗ «Диагностический центр Алтайского края». Диагностика тромбогенных аллельных полиморфизмов осуществлялась с использованием полимеразной цепной реакции. УЗ-мониторинг проводился на ультразвуковом аппарате HAWK-2102.

Научно-исследовательский проект был утвержден 30.11.2009 г. (протокол № 10) и соответствовал этическим стандартам локального Биоэтического комитета при Алтайском государственном медицинском университете. Проведение научно-исследовательской работы разработано в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все лица, участвующие в исследовании, дали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета компьютерных программ Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение

Средний возраст женщин с признаками нДСТ составил 22,93±3,86 года, без признаков нДСТ - 22,54±3,52 года (p≥0,05). Количество первобеременных и повторнобеременных также было идентичным. Среднее значение выраженности нДСТ составило 8,14±3,76 баллов и расценивалось в соответствии со шкалой как легкая степень проявлений дисплазии соединительной ткани (до 9 баллов). Дисфункция яичников в пубертатном периоде у женщин групп сравнения характеризовалась олигоменореей, маточными кровотечениями пубертатного периода и дисменореей. Частота искусственных абортов в анамнезе у женщин групп сравнения не различалась, но число самопроизвольных абортов у женщин с признаками нДСТ (1-я и 3-я группы, *n*=360), (p<0,0001) более, чем в 4 раза (8,3 и 1,9%), превышало таковое у женщин без признаков нДСТ (2-я и 4-я группы, *n*=260). Поздние репродуктивные потери во II и III триместрах в анамнезе имели лишь пациентки 1-й группы (2,9%). Более того, репродуктивный анамнез пациенток 1-й группы оказался достоверно чаще отягощенным самопроизвольными абортами (12,2%), неразвивающейся беременностью (2,9%) и антенатальной гибелью плода (0,8%). Женщины с физиологическим становлением менструального цикла в пубертатном периоде и без признаков ДСТ в анамнезе репродуктивных потерь не имели (табл. 1).

Таблица 1. Частота репродуктивных потерь в анамнезе и во время анализируемой беременности у женщин зависимости от наличия или отсутствия недифференцированных форм ДСТ и нарушений менструального цикла в пубертатном периоде

Осложнение беременности	1-я группа (*n* = 245)	2-я группа (*n* = 60)	3-я группа (*n* = 115)	4-я группа (*n* = 200)	*p -1,2,3,4*
Самопроизвольные аборты	12,2	8,3	8,7	0	$P_{1:2} < 0,05$
Неразвивающаяся беременность	2,9	0	2,6	0	
Поздние репродуктивные потери	2,9	0	0	0	
Антенатальная гибель плода	0,8	0	0	0	
Неонатальные потери	0,8				
Всего репродуктивных потерь в анамнезе	15,1	8,3	11,3	0	$P_{1:2,2:3} < 0,05$

При анализе здоровья ближайших кровных родственников женщин (родители, прародители, сибсы и полусибсы) нами установлено, что семейный анамнез пациенток с нДСТ и НМЦ в пубертатном периоде оказался более отягощенным тромботическими заболеваниями, которые явились непосредственной причиной инвалидности и преждевременной смертности. Так, в 1-й группе 72,7% родственников обследуемых женщин страдали тромботическими заболеваниями (инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбофлебит, флеботромбоз, тромбоэмболия легочной артерии). В остальных группах тромботический семейный анамнез (*p*<0,001) в 3 раза был менее отягощен (24,8; 23,7 и 27,5% соответственно).

Тромботический семейный анамнез проявился тромботическими осложнениями и у обследованных нами беременных с нДСТ. У 13,3% женщин наблюдалось осложненное течение беременности в виде наклонности к тромбозам (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, замершая беременность, угроза выкидыша с формированием субхорионической гематомы).

Клинические признаки угрозы выкидыша в I триместре в 9-12 нед (период плацентации) характеризовались тянущими болями внизу живота, кратковременными кровяными выделениями и наблюдались в 2,6 раза чаще

(p<0,05) в 1-й группе (табл. 2). Более того, у пациенток 1-й группы более чем в 4 раза чаще выявлялись клинические симптомы субхорио- нической гематомы, тогда как у женщин без признаков нДСТ данное осложнение беременности не выявлено. Обращает на себя внимание, что более чем у половины пациенток 1-й группы выявлено краевое или низкое прикрепление хориона в полости матки, что свидетельствует о нарушениях в процессах имплантации бластоцисты в результате иммунопатологических и тромбофилических осложнений в ранних сроках беременности [2, 4, 12, 13]. На основании выявления доклинических признаков угрозы прерывания беременности, установления типа плацентации с помощью ультразвукового исследования были определены показания для профилактического стационарного лечения. Медицинская помощь с целью сохранения беременности была предоставлена (p<0,01) достоверно чаще пациенткам 1-й группы (табл. 2).

Таблица 2. Осложненное течение I триместра беременности у женщин в зависимости от имеющихся у них недифференцированных форм ДСТ и менструально-овариальной дисфункции в пубертатном периоде

Осложнения беременности в I триместре	1-я группа (n = 245)	2-я группа (n = 60)	3-я группа (n = 115)	4-я группа (n = 200)	*p -1,2,3,4*
Токсикоз 1-й половины	14,3	5,0	11,3	3,0	$P_{1:2,4} < 0,05$
Угроза самопроизвольного выкидыша	24,1	15,0	14,8	6,0	$P_{1:4} < 0,05$
Субхорионическая гематома	7,8	0	1,7	0	$P_{1:3} < 0,05$
Аномалии расположения плаценты	67,3	23,3	33,9	33,0	$P_{1:2} < 0,01$
Доклинические признаки угрозы прерывания беременности (УЗ)	16,7	8,3	10,4	8,1	$P_{1:2} < 0,05$

При исследовании уровня соматического здоровья установлено, что каждая 3-я пациентка 1-й и 3-й группы во время беременности имела вегетососудистые дистонии (38,6%), заболевания опорно-двигательного аппарата (36,4%) и органов зрения (36,4%). При изучении особенностей течения этих заболеваний нами отмечено, что в 35% случаев вегетососудистые дистонии сформировались у них уже в пубертатном периоде. Во время беременности у женщин 1-й группы наблюдались все типы вегетативной дисфункции (эйтонический, симпатотонический, ваготонический), а в 3-й группе встречался только ваготонический тип дисфункции. У женщин с недифференцированными формами ДСТ в 1-й и 3-й группах в 13,6 и 6,3% случаев соответственно уже при первой беременности выявлена достоверно большая частота венозной недостаточности нижних конечностей, варикозного расширения вен малого таза и наружных половых органов и геморроя. В последующем в 1-й группе наблюдались случаи возникновения послеродового тромбофлебита и флеботромбоза (1,1%).

Прогрессирование несостоятельности кроветворной системы во время беременности и увеличение риска тромбогеморрагических нарушений наблюдалось в 1,5 раза чаще в группе молодых женщин (p<0,05) с нДСТ и НМЦ в пубертатном периоде. Сочетанные изменения в системе гемостаза у пациенток с нДСТ проявились в комбинированных нарушениях численности и объема форменных элементов крови. Все средние значения исследуемых параметров крови были в пределах возрастных норм. Количественный анализ лейкоцитарных и эритроцитарных параметров крови не выявил достоверных различий. Но при анализе среднего объема эритроцитов установлено достоверное его снижение в 1-й группе, более высокая частота анизоцитоза эритроцитов в 3-й группе пациенток, имеющих недифференцированные формы ДСТ. При анализе тромбоцитарных параметров у них установлено достоверное снижение (p<0,01) средних значений числа тромбоцитов (199,95±44,39 **x** 10^9/л, 200,85±57,88 **x** 10^9/л и 215,0±45,20 x 10^9/л, 205,9±45,57 x 10^9/л). У женщин с недифференцированными формами ДСТ отмечено достоверное увеличение анизоцитоза тромбоцитов в 1-й группе и увеличение среднего объема тромбоцитов в 3-й группе по сравнению с пациентками, не имеющими недифференцированных форм ДСТ, у которых выявлено большее количество молодых форм тромбоцитов и ускорение тромбоцитопоэза.

Учитывая роль аллельных полиморфизмов, обусловливающих склонность как к формированию тромбозов, так и к неудачам беременности [3, 6, 10, 12, 13, 15], нами исследована частота встречаемости тромбогенных ДНК-полиморфизмов в группах сравнения. Оказалось, что у пациенток с нДСТ было установлено достоверно более частое (p<0,05) носительство тромбогенных мутаций (91,0% в 1-й и 97,4% - в 3-й группе) по сравнению с частотой тромбогенных ДНК-полиморфизмов в остальных

Таблица 3. Частота встречаемости аллельных тромбогенных ДНК-полиморфизмов в выделенных клинических группах (%)

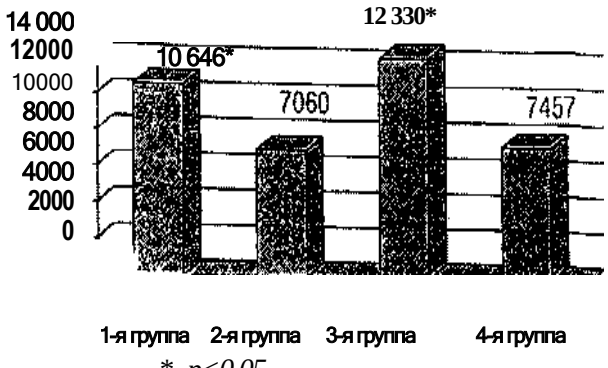
Аллельные полиморфизмы тромбогенных показателей	1-я группа (*n* = 89)	2-я группа (*n* = 6)	3-я группа (*n* = 88)	4-я группа (*n* = 31)	*p -1,2,3,4*
Метилентетрагидрофолатредуктаза, в том числе: а) гетерозигота б) патологическая гомозигота	 64,0 5,6	 16,6 0	 50,0 0	 54,8 0	
Ингибитор активатора плазминогена – 1 (PAI-1), в том числе: а)гетерозигота б) гомозигота в) патологическая гомозигота	 49,4 3,4 16,9	 50,0 0 16,7	 50,0 0 23,7	 35,5 0 19,4	
Фактор V Лейдена, в том числе: а) гетерозигота б) патологическая гомозигота	 4,5 11,2	 0 0	 0 0	 6,5 0	
Фактор II а) гетерозигота	 5,6	 16,7	 0	 0	
1 генетический дефект	37,1	66,6	55,3	38,7	$P_{1:4} < 0,05$
2 и более генетических дефектов	53,9	16,7	42,1	35,5	$P_{1:2}$ $P_{1:4}$ $P_{3:4} < 0,05$
Нормозиготы	9,0	16,7	2,6	25,8	$P_{1:4}$ $P_{3:4} < 0,01$
Частота тромбофилических аллельных полиморфизмлв	91,0	83,3	97,4	74,2	$P_{1:4} < 0,05$ $P_{3:4} < 0,01$

группах соответственно 83,3% во 2-й и 74,2% - в 4-й группе (p<0,001). Притом у пациенток с нДСТ и НМЦ установлена наибольшая частота встречаемости полиморфизма метилентетрагидрофолатредуктазы (табл, 3).

Как известно, при физиологической беременности наблюдается достоверное снижение уровня гомоцистеина в результате потребления тканями плода и адаптации организма матери, направленной на поддержание адекватной циркуляции крови в плаценте. Нарушения обмена метионина проявились гипергомоцистеинемией, выявление которой достоверно различалось в выделенных группах обследованных женщин (см. рисунок). Среднее значение уровня гомоцистеина у женщин с нДСТ, сопряженными с патологией системы гемостаза в 1-й и 3-й группах, достоверно (p<0,05) превышало таковое в группах женщин, не имеющих ДСТ (10,646±6,437; 12,330±9,291 мкмоль/л и 7,060±5,944; 7,457±4,540 мкмоль/л соответственно). Характерно, что количество пациенток, имеющих гипергомоцистеинемию, более чем в 2 раза чаще выявлено (p<0,05) в 1-й и 3-й группах (42,9; 46,2% и 20,0; 14,3% соответственно). В дальнейшем гипергомоцистеинемия явилась одним из

факторов возникновения наибольшей частоты преэклампсии и внутриутробной задержки развития плода в группе женщин с нДСТ и НМЦ ПП.

О начальных проявлениях плацентарной недостаточности судили по количественному снижению хорионического гонадотропина и прогестерона. Средние значения прогестерона в первой группе были недостоверно ниже (3340,0±958,12 нг/мл и 3500,0±1430,62 нг/мл). Концентрация хорионического гонадотропина в 1-й и 3-й группах с признаками ДСТ находилась в пределах нормативных, но была достоверно ниже (p<0,05), чем во 2-й и 4-й группах женщин без признаков ДСТ (53150,0±34698,74 и 81780,0±44578,21 мМЕ/мл соответственно).



Средняя концентрация гомоцистеина (мкмоль/л) в I триместре беременности в сыворотке крови у пациенток в зависимости от наличия недифференцированных форм дисплазии соединительной ткани и наличия нарушений менструального цикла в пубертатном периоде

Для диагностики состояния синцитиотро- фобласта плаценты произведено определение концентрации гормонов фетоплацентарного комплекса на 10-й неделе гестационного периода. Отмечено повышение плацентарного лактогена в

первой группе (1,532±1,730 и 0,500,0±0,303 мг/л) и почти двукратное повышение среднего значения неконъюгированного эстриола (7,066±5,713 и 3,962±4,755 нмоль/л).

Проведенное исследование показало, что более чем у половины пациенток 1-й группы (p<0,001) на фоне отягощенного акушерского анамнеза и разнонаправленных соматических заболеваний беременность протекала на фоне фетоплацентарной компенсированной недостаточности (55,9; 15,5; 42,6 и 28,3%). У каждой пятой женщины с признаками ДСТ и НМЦ ПП наблюдались суб- или декомпенсированные формы плацентарной недостаточности и рождение маловесных для срока беременности детей с признаками гипоксии (18,0; 3; 6,1 и 0% соответственно). В этой же группе беременность завершилась родами с перинатальными потерями в 1,6% случаев.

Таким образом, течение беременности у женщин с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани,сопряженными с генетическими дефектами системы гемостаза, характеризуется гемостазиологическими дисфункциями, которые протекают по варианту тромботической мезенхимальной дисплазии. Для правильной интерпретации особенностей течения ранних сроков беременности необходимо учитывать данные семейного тромботического анамнеза

таких пациенток. Группу риска при этом составляют молодые женщины с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани и с нарушениями ритма менструаций с менархе. У этих пациенток сочетание носительства тромбогенных аллельных полиморфизмов и особенностей течения пубертатного периода имеет корреляционную связь с развитием осложнений беременности с ранних сроков вынашивания.

Сведения об авторах

Уварова Елена Витальевна - доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения гинекологии детского и юношеского возраста ФГУ НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова Росмедтехнологий (Москва)

E-mail: elena-uvarova@yandex.ru

Кудинова Евгения Геннадьевна - кандидат медицинских наук, докторант кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС Алтайского государственного медицинского университета (Барнаул)

E-mail: kudinaite@mail.ru

Момот Андрей Павлович - доктор медицинских наук, профессор, директор Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН (Барнаул)

E-mail: xyzan@yandex.ru

Литература

1. ***Айрапетов Д.Ю.*** Значение недифференцированной дисплазии соединительной ткани в формировании женского бесплодия // Акуш. и гин. - 2008, - № 2. - С. 47-50.
2. ***Баев О.Р.*** Аномалии прикрепления плаценты // Там же. - 2009. - № 5 . - С. 3-6.
3. ***Баркаган З.С., Момот А.П.*** Основы диагностики нарушений гемостаза. - М., 1999.
4. ***Бурлев В.А.*** Сосудисто-эндотелиальный фактор роста и растворимые рецепторы у беременных с внутриутробным инфицированием плода // Вопр. гин., акуш. и перинатол. - 2007. - Т. 6, №> 3. - С. 13-17.
5. ***Гладких Н.Н., Ягода А.В.*** Клинико-патогенетические аспекты изменений в системе гемостаза при врожденной дисплазии соединительной ткани // Гематол, и трансфузиол. - 2007. - Na 3. - С. 42-47.
6. ***Клеменов А.В. и др.*** // Течение и исходы беременности у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Рус. мед. журн. - 2003.-Т. 11. №28. - С. 1565.
7. ***Козинова О.В.*** Беременность и роды у больных с недифференцированной дисплазией соединительной ткани ***Н*** Вопр. гин., акуш. и перинатол. - 2007. - Т. 6, № 1. - С. 66-69.
8. ***Кулаков В.И., Богданова Е.А.*** Руководство по гинекологии детей и подростков. - М., 2005. - С. 42-54.
9. ***Макацария А.Д. Юдаева Л.*** Основные принципы ведения беременности и родоразрешения при мезенхимальных дисплазиях // Врач. - 2007. - Na 8. - С. 5-9.
10. ***Момот А.П.*** Патология гемостаза. - СПб., 2006. - 209 с.
11. ***Нечаева Г.И., Викторова И.А.*** Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов. - Омск: Типография БЛАНКОМ, 2007.-188 с.
12. ***Сидельникова В.М.*** Эндокринология беременности в норме и при патологии. - М., 2009. - 351 с.
13. ***Сидельникова В.М., Шмаков Р.Г.*** Механизмы адаптации и дизадаптации гемостаза при беременности. - М., 2004. -192 с.
14. ***Стоненко В.Б., Дулин П.А., Панфилов Д.Н. и др.*** Соединительнотканные дисплазии (наследственные коллагенопатии) // Клин. мед. - 2006. - **Т.**84, № 6. - С. 62-68.
15. ***Суханова Г.А., Баркаган З.С., Котовщикова Е.Ф.*** Тромботические мезенхимальные дисплазии и их связь с другими тромбофилиями ***II*** Гематол. и трансфузиол. - 2003. - № 6. - С. 13-14.



Е.Г. Кудинова[1,2], А.П. Момот[2,3], Е.В. Уварова[4]

[1] **ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»**
[2] **ГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул**
[3] **Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Барнаул**
[4] **ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва**

Для корреспонденции Кудинова Евгения Геннадьевна - кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог высшей категории, ассистент кафедры акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2 Телефон: (3833) 63-42-10 E-mail: kudinaite@mail.ru

Современные подходы к профилактике расстройств репродуктивной системы у девочек-подростков и женщин с наследственными нарушениями соединительной ткани и факторами геморрагического или тромбогенного риска

В настоящем обзоре приведен анализ применения профилактических мероприятий для предотвращения расстройств репродуктивной системы у пациенток с наследственными нарушениями соединительной ткани (ННСТ). Установление варианта течения ННСТ (геморрагического или тромботического) предполагает целенаправленную коррекцию изменений в системе гемостаза и регуляцию метаболизма коллагена у таких пациенток.
Ключевые слова: *наследственные нарушения соединительной ткани, репродуктивная система, девочки-подростки, беременные*

E.G. Kudinova, A.P. Momot, EV. Uvarova
[1] Novosibirsk National Research State University
[2] Altai State Medical University, Barnaul
[3] Altai Branch of Research Center for Hematology, Barnaul
[4] The Kulakov Obstetrics, Gynecology and Perinatology Research Center, Moscow

Modern preventive in case of repeoductive system disorders in adolescent girls and women with hereditary connective tissue disturbances and hemorrhagic or thrombotic risk factors

The review analyses the use of preventive measures in case of reproductive function disorders in patients with hereditary disorders of connective tissue (NRCT), Establishing NRCT type (hemorrhagic or thrombotic) allows targeted correction of hemostasis system changes and collagen metabolism regulation in these patients.
Key words: *hereditary connective tissue disorders, reproductive function, adolescent girls, pregnant*

Пристальное внимание к проблеме наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ) ряда исследователей [1] обосновано сохранением высокой частоты осложненной беременности в популяции женщин [2], а также необходимостью поиска маркеров геморрагических проявлений и дефицита факторов свертывания крови, с одной стороны, и проявлений исходного состояния тромботической готовности с тромботическим ответом, с другой [3], уже в периоде полового созревания до принятия решения о деторождении [4]. На фоне генетически детерминированных изменений соединительной ткани и носительства протромбогенных аллельных ДНК-полиморфизмов беременность, как дополнительный фактор тромбогенного риска, может провоцировать у пациенток с ННСТ усугубление состояния тромботической готовности [6-9]. Из этой ситуации выделение предикторов для раннего выявления плацентарных нарушений позволит своевременно спрогнозировать и провести мероприятия по улучшению течения беременности и развития плода у таких пациенток [5].

Знание маркеров исходной несостоятельности репродуктивной системы у пациенток с ННСТ в виде расстройств менструаций в пубертатном периоде позволяет прогнозировать и проводить профилактические мероприятия при планировании, ведении беременности, родов и послеродового периода. Необходимое установление состояния тромботической или геморрагической готовности кровеносного русла, оценка функции тромбоцитов и определение коагуляционных сдвигов и количественного и качественного содержания факторов свертывания крови представляют наиболее важную задачу в оказании лечебной помощи таким пациенткам как в периоде полового созревания, так и во время беременности и родов.

Пациентки с ННСТ и ассоциированными репродуктивными осложнениями нужда ются в эффективной стратегии и тактике ведения [10-12]. Улучшение медицинской помощи у них, начиная с подросткового возраста, становится наиболее актуальным во время беременности и родов.

В настоящее время в профилактике и лечении пациенток с ННСТ при неклассифицируемом фенотипе особое значение приобретают эффективные методы биоинформатики, изучение генома, исследование микрочипов на основе секвенирования для обнаружения патологических вариантов в генах, связанных с болезнью [13]. Изучение оксидативного статуса сыворотки крови и полиморфизма генов основных энзимов у пациенток с ННСТ позволило выявить у них некоторые особенности биогенеза свободных радикалов и генетические полиморфизмы, необходимые для создания индивидуального генетического метаболического паспорта пациентки, приватного консультирования, а также поиска новых эффективных и безопасных средств коррекции [14].

Современные достижения геномики и эпигеномики человека в исследовании наследственной и мультифакторной патологии позволяют проводить у пациенток с ННСТ генетическое тестирование, изучение генов предрасположенности, генных сетей мультифакторных заболеваний (МФЗ) и установления их значения для развития персонализированной, предиктивной, превентивной медицины (ПППМ). С позиции ПППМ [15] необходимо рассматривать проблемы этиологии и патогенеза ННСТ, использовать молекулярно-генетические подходы и новые методы диагностики, основные технологии идентификации «причинных» генов ННСТ. Кроме того, важен анализ влияния эпигенетических факторов в развитии ННСТ. Только комплексный подход с позиции системной генетики, включающей не только идентификацию и структурный анализ причинных генов, но и механизмы эпигенетической регуляции их функции на разных уровнях реализации генетической информации,

позволит помочь пациенткам с НИСТ при неклассифицируемом фенотипе в периоде полового созревания и во время беременности.

При использовании определения основных гемокоагуляционных тестов у пациенток с НИСТ становится возможным избежать как тромботических, так и геморрагических осложнений, и таким образом уменьшить заболеваемость самих пациенток с НИСТ и их детей [16, 17]. По предложению экспертов ВОЗ, высококачественные рандомизированные исследования, методологически оправданные, на основе которых будут изданы рекомендации для профилактики тромбоза или геморрагических осложнений во время беременности и в раннем послеродовом периоде у женщин, в том числе с НИСТ, являются оправданными [18].

Кроме определения значимости влияния генетических и эпигенетических факторов на развитие НИСТ, не менее важной является оценка методов лечения у таких пациенток. Подростковый период, когда активизируются процессы формирования функции репродуктивной системы, характеризуется усиленным влиянием половых гормонов на метаболизм коллагена. Тестостерон и эстрадиол оказывают протективное воздействие, а прогестерон усиливает распад коллагена [19]. Механизмы аномального коллагенообразования у подростков с НИСТ характеризует, в первую очередь, недостаточное влияние половых гормонов. Наличие дисфункции яичников и расстройств менструации у девочек-подростков требует не только регулирования ритма и характера менструаций, но и проведения мероприятий, направленных на улучшение процессов коллагенообразования путем введения аскорбиновой кислоты, витаминов группы В, селена, цинка, магния, железа, фолиевой кислоты, ангиопротекторов и мембраностабилизаторов.

Поиск новых путей и подходов для пациенток с НИСТ при планировании и во время беременности также наиболее оправдан [20]. Известно, что применение антикоагулянтной терапии у них во время беременности ограничено в связи с повышенным риском геморрагических осложнений вследствие изменений в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе и высокой частоты ангиопатий. Тем не менее определение гиперкоагуляционных сдвигов в кровотоке женщин с НИСТ при неклассифицируемом фенотипе позволяет применять низкомолекулярные гепарины с ранних сроков беременности, безопасность которых в I триместре была доказана группой ученых в ходе международного мультидисциплинарного исследования в 1998 г. [21-24].

Учитывая риск геморрагических проявлений у пациенток с НИСТ [25], при начальных проявлениях активации тромбоцитарного звена гемостаза предпочтительнее использовать с целью снижения агрегационной активности тромбоцитов препараты магния [26], а у пациенток с дефицитом ферментов фолатного цикла необходима коррекция нарушений метионина препаратами, содержащими фолиевую кислоту в сочетании с витаминами группы В, которые выступают кофакторами реализации обезвреживания повышенных значений гомоцистеина [27]. Существующая эндотелиальная дисфункция у пациенток с НИСТ опосредованно может купироваться под влиянием прогестагенов [28], которые повышают продукцию оксида азота (NO) в эндотелиальных клетках, влияющего на сосудистый тонус, тем самым обладают сосудорасширяющим действием и оказывают позитивное влияние на функционирование фетоплацентарного комплекса. Дидрогестерон обладает высоким сродством к рецепторам прогестерона, способствуя эффективному ответу эндометрия на гестагенное воздействие, обеспечивая его полноценную трансформацию. При этом иммуномодулирующее воздействие дидрогестерона проявляется в снижении сосудистого воспалительного ответа, подавле-

нии фагоцитарной функции макрофагов, пролиферации лимфоцитов, NK-клеток и активности цитотоксических Т-клеток, таким образом приводя к улучшению процессов инвазии трофобласта, снижению активированной протромбиназы и формированию нормального кровообращения в системе мать-плацента-плод.

Таким образом, изучение генома пациенток с ННСТ, выявление факторов тромбогенного и геморрагического риска, а также признаков активации свертывания крови и фибринолиза или геморрагического синдрома позволяет своевременно выявить у них состояние тромботической или геморрагической готовности и применить на фоне ангиопротекторов, мембраностабилизаторов, стимуляторов коллагенообразования, с одной стороны, противотромботическую терапию, а с другой - своевременную гемостатическую терапию, обеспечив тем самым благоприятное течение пубертатного периода и благополучный исход последующей беременности.

Сведения об авторах

Кудинова Евгения Геннадьевна - кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог высшей категории, ассистент кафедры акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», докторант кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (Барнаул)
E-mail: kudinaite@mail.ru

Момот Андрей Павлович - доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, директор Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Барнаул)
E-mail: xyzan@yandex.ru

Уварова Елена Витальевна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая 2-м гинекологическим отделением (гинекологии детского и юношеского возраста) ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России (Москва)
E-mail: elena-uvarova@yandex.ru

Литература

1. *Sullivan E.A., Ford J.B., Chambers G.* Maternal mortality in Australia, 1973-1996//Aust. N.Z. J. Obstet. Gynecol. - 2004.-Vol. 44,1. 5.- P. 452-457.
2. *Гайсин И.Р., Валеева Р.М., Максимов Н.И. и др.* Оротат магния в лечении хронической артериальной гипертензии у беременных женщин // Кардиология. - 2013.-№9.-С. 33-39.
3. *Grandone E., Margaglione M.* Inherited thrombophilia and gestational vascular complications // Best Pract. Res. Clin. Haematol. - 2003. - Vol. 16, N 2. - P. 321-332.
4. *Mclintock C., Brighton T., Chunilal S.* Recommendations for the diagnosis and treatment of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in pregnancy and the postpartum period // Aust. N.Z. J. Obstet. Gynecol. - 2012.-Vol. 52,1.1.-P. 14-22.
5. *Chua B.G., Burrows R.F.* Prothrombin G20210A mutation is not associated with recurrent miscarriages // Aust. N.Z. J. Obstet. Gynecol. - 2002. - Vol. 42,1. 2. - P. 167-169.
6. *More Parveen Z, Tongson-lgnacio J., Fraser C. et ai.* Placental mesenchymal dysplasia. // Arch. Pathol. Lab. Med. - 2007. - Vol. 131 (1). - P. 131-137.
7. *Bare S., Рука R., Balogh I.* Factor V Leiden as a risk factor for miscarriage and reduced fertility // Aust. N.Z. J. Obstet. Gynecol. - 2000. - Vol. 40, I. 2. - P. 186-190.
8. *Makris M.* Thrombophilia: grading the risk // Blood. - 2009.-Vol. 113 (21).-P. 5038-5039.
9. *МомотАЛ., Тараненко И.А., Цывкина* Я/7. Эволюция представлений о тромбофилии и ее роли в проблемах репродукции человека / Сб. ст. «Нарушение гемостаза в клинической практике». – С. 40-44.

© Е.Г. Кудинова, А.П. Момот, 2014

Е.Г. КУДИНОВА[1,2], А.П. МОМОТ[2,3]

ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОК С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ НАРУШЕНЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В РАННИЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ

[1]ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск
[2]ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул
[3]Алтайский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Барнаул

Цель исследования. *Сравнение показателей коагуляционного гемостаза и фибринолиза, уровней гормонов фетоплацентарного комплекса у молодых женщин в ранние сроки беременности в зависимости от выраженности наследственных нарушений соединительной ткани и применения тромбопрофилактики.*
Материал и методы. *У 418 беременных с наследственными нарушениями соединительной ткани и у 313 беременных без наследственных нарушений соединительной ткани проведено изучение параметров коагуляционного гемостаза и фибринолиза, показателей гормонов фетоплацентарного комплекса и определены корреляционные взаимосвязи индексов сосудистого сопротивления в маточно-плацентарном комплексе с показателями системы гемостаза.*
Результаты. *Установлено, что при использовании препаратов низкомолекулярного гепарина в сочетании с дидрогестероном наблюдается улучшение параметров гормонов маточно-плацентарного комплекса у пациенток с наследственными нарушениями соединительной ткани.*
Заключение: *Тромбопрофилактики и терапия дидрогестероном с ранних сроков у пациенток с наследственными нарушениями соединительной ткани позволяет улучшить показатели маточно-плацентарного комплекса.*

Ключевые слова: *наследственные нарушения соединительной ткани, беременные, система гемостаза, тромботические осложнения, маточно-плацентарный комплекс.*

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

E.G. KUDINOVA[1,2], A.P. MOMOT[2,3]

CHANGES IN THE HEMOSTATIC SYSTEM IN PATIENTS WITH HEREDITARY CONNECTIVE TISSUE DISORDERS IN EARLY PREGNANCY

'Novosibirsk State National Research University, Novosibirsk
[2]Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia, Barnaul
[3]Altai Branch, Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia, Barnaul

Objective. *To compare the parameters of coagulation hemostasis and fibrinolysis and the levels of fetoplacental unit hormones in young women in early pregnancy in relation to the degree of hereditary connective tissue disorders and thrombosis prophylaxis.*
Subject and methods. *The parameters of coagulation hemostasis and fibrinolysis and the levels of fetoplacental unit hormones were studied and correlations between vascular resistance indices in the uteroplacental unit and hemostatic system parameters were determined in 418 patients with hereditary connective tissue disorders and in 313 pregnant women without these conditions.*
Results. *The use of low-molecular-weight heparins in combination with dydrogesterone was found to improve the indicators of uteroplacental unit hormones in the patients with hereditary connective tissue disorders.*
Conclusion. *Thrombosis prophylaxis and dydrogesterone therapy in early periods in patients with hereditary connective tissue disorders can improve uteroplacental unit parameters.*

Key words: *hereditary connective tissue disorders, pregnant women, hemostatic system, thrombotic complications, uteroplacental unit.*

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Внимание многих ученых сегодня привлекает изучение особенностей маточно-плацентарной гемодинамики у пациенток с наследственными нарушениями соединительной ткани (ННСТ) [1]. Глубина вовлечения соединительной ткани в патологический процесс коллагенообразования репродуктивных орга-

нов и общие механизмы и закономерности определяют степень нарушений маточно-плацентарного комплекса. Известно, что зоной взаимного влияния считается децидуальная оболочка, которая в материнском организме посредством гормонов и рецепторов имеет тесный контакт с плодом через амниотическую полость и подлежащий миометрий. Метаболические, гормональные, иммунные процессы во время беременности обеспечиваются через сосудистую систему матери и плода, а перфузионное давление в капиллярах ворсин хориона стимулирует плацентарный ангиогенез. Патология маточно-плацентарного комплекса проявляется нарушением артериального притока крови в межворсинчатое пространство, затруднением венозного оттока крови из него и изменениями реологических и коагуляционных свойств крови матери и плода (гиперкоагуляция, гиперагрегация, нарушения вязкости крови) [2, 3]. При этом носительство протромбогенных аллельных полиморфизмов у женщин с ННСТ усугубляет склонность, как к формированию тромбозов, так и к неудачам беременности [4—8]. Возникающие гемореологические нарушения характеризуются обширными кровоизлияниями и тромбозами межворсинчатого пространства плаценты, гиповаскуляризацией ворсин, очагами фиброза и массивными отложениями кальцификатов [9, 10].

Система гемостаза с момента нидации плодного яйца перестраивается в ответ на беременность. Отмечаются процессы, способствующие прикреплению бластоцисты и последующему развитию маточно-плацентарных взаимоотношений. В результате первой (в 5 недель) и второй (8 недель беременности) волны инвазии трофобласта децидуальные сегменты спиральных артерий замещаются прорастающим в них трофобластом и формирующимся фибриноидом. К концу I триместра беременности (3-я волна инвазии) клетки трофобласта, занимающие просвет спиральных артерий, покидают его, что сопровождается значительным притоком крови к межворсинчатому пространству. Трансформированные спиральные сосуды обеспечивают улучшение перфузии плаценты и, поскольку они лишены гладко мышечных клеток, то становятся неспособными реагировать на действие сосудосуживающих факторов, и в 14—20 недель трофобласт внедряется в стенки артериальных сосудов, расположенных в миометрии. Весь процесс гестационной сосудистой перестройки спиральных артерий матки завершается к концу 20-й недели беременности, обеспечивая тем самым в первой половине беременности последующее развитие плода [1, 11].

Известно, что уровень гормонов плаценты и плода - прогестерон, эстриол, PAPP-A (ассоциированный с беременностью протеин А плазмы). (β-субъединица хорионического гонадотропина человека (β-ХГЧ), α-фетопротеин (АФП), отражает состояние не только самой плаценты и плода, но и состоятельность маточно-плацентарного кровотока. Однако ХГЧ способствует не только синтезу эстрогенов и прогестерона и влияет на функционирование желтого тела при беременности. Этот гликопротеин, наряду с PAPP-A и АФП, способствует также и торможению иммунологических реакций организма беременной путем индукции супрессорных Т-клеток, препятствуя отторжению плодного яйца. Наивысшего уровня (β-ХГЧ достигает в 10 недель, после чего его концентрация уменьшается с повторным пиком в 32—34 недели [1]. Кроме того, в I триместре вневорсинчатый трофобласт, а в более поздние сроки — синцитиотрофобласт осуществляет основной синтез плацентарного лактогена (ПЛ), который способствует поддержанию желтого тела яичников при беременности и выработке им прогестерона, снижающего активность гладкой мускулатуры и стимулирующего рост матки, на фоне подавления реакции отторжения плодного яйца. При нехватке данного гормона во время беременности используются натуральные и синтетические прогестины, среди которых благоприятный эффект на метаболизм (антиандрогенный, антиминералокортикоидный) оказывает дидрогестерон [12]. «Парциальный» эффект синтетического прогестагена обусловлен взаимодействием с рецепторами других стероидных гормонов, что способствует сохранению беременности и улучшению маточно-плацентарного кровотока.

Функционирование фетоплацентарного комплекса характеризует также оценка концентрации эстриола (Е3) в сыворотке крови [13], который при беременности улучшает ток крови по сосудам матки, снижая их сопротивление. Но при этом, функционирование сосудов плаценты неразрывно связано с уровнем АФП, оказывающего стимулирующее воздействие на рост и пролиферацию фибробластов и обладающего синергизмом по отношению к эпидермальному, трансформирующему и инсулиноподобному фактору роста, тем самым оказывая влияние на метаболизм стероидных гормонов [14]. Один из главных механизмов регуляции транс-специфических генов, в числе которых ген АФП, основан на межклеточных взаимодействиях, которые осуществляются через взаимодействие клетки со специфическим матриксом. В свою очередь, матрикс — межклеточное вещество, создаваемое клетками соединительной ткани, взаимодействует с рецепторами клеток, поддерживает их форму и способствует образованию тканеспецифических структур. В связи с вышеизложенным, актуальность изучения изменений в системе гемостаза и механизмов межклеточных взаимодействий и формирования плацентарных нарушений у пациенток с ННСТ несомненна, так как позволяет провести мероприятия по своевременному улучшению плацентарного кровотока.

Целью исследования явилось изучение особенностей системы гемостаза и плацентарных нарушений у пациенток с ННСТ в ранних сроках беременности.

Материал и методы исследования

Проспективно изучено течение беременности, особенностей системы гемостаза, уровня гормонов плазмы крови, эхографического и в последующем ретроспективно морфологического строения плаценты у 731 беременной в I триместре беременности. К критериям включения в группу обследования были отнесены наличие ННСТ, расстройства менструаций в пубертатном периоде (РМПП), возраст 18-24 года.

Нами были сформированы 4 группы беременных пациенток для выявления роли ННСТ в генезе формирования плацентарных нарушений и тромботических осложнений беременности. Пациентки с ННСТ и РМПП в анамнезе (*n*=295) были включены в 1-ю группу, 2-я группа — пациентки с ННСТ и физиологическим ритмом менструаций с менархе (ФМ) (*n*=123), 3-я группа — пациентки без признаков ННСТ и с ФМ (*n*=240), 4-я группа - пациентки без ННСТ, но с РМПП в анамнезе (*n*=73). Критериями исключения были аномалии развития репродуктивных органов, синдром поликистозных яичников и хромосомные нарушения.

У пациенток групп сравнения во время беременности проведено молекулярно-генетическое исследование структуры протромбогенных аллельных генов 5, 10 — метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR (677T), ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI-1 (675 5G/4G), фактора V Лейден (Arg506Gln), фактора II протромбина (G20210A), генов, кодирующих функцию тромбоцитарных гликопротеинов, участвующих в тромбоцитарном гемостазе (GPlba (VNTR), GpIa (C807T)-интегрин-α2)), GpIIIa(T1565C)- интегрин-бета-3)), (GP VI- тромбоцитарный гликопротеин 6 (C683E)).

Для диагностики состояния синцитиотрофобласта определена концентрация гормонов фетоплацентарного комплекса в 10 недель беременности. Диагностика фенотипических и локомоторных проявлений ННСТ осуществлялась в ходе клинического обследования пациенток с учетом критериев выраженности дисплазии соединительной ткани [15].

Эхографические исследования проводились с использованием цветового и допплеровского картирования на аппаратах «TOSHIBA», «ACCUVIX» с вычислением индексов резистентности в автоматическом режиме при исследовании маточных артерий у пациенток во время беременности.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета компьютерных программ Statistic 7.0. Использовался дисперсионный анализ для проверки статистических гипотез. Применялся парный двухвыборочный *t*-тест для средних. Описание выборки проводили с помощью подсчета среднего значения признака (M), стандартного отклонения (SD), медианы (Me). В случаях нормального распределения признаков, а также равенства выборочных дисперсий, для сравнения использовали t-критерий Стьюдента. Научно-исследовательский проект был утвержден 30.11.2009 г. (протокол № 10) и соответствовал этическим стандартам локального биоэтического комитета при ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России. Все лица, участвующие в исследовании, их родители, подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты исследования

Репродуктивные потери в анамнезе ($p<0,001$) установлены наиболее часто у женщин с ННСТ и характеризовались самопроизвольными абортами (12,2 и 8,7%) и неразвивающейся беременностью (2,9 и 2,6%) в 1-й и 2-й группе соответственно по сравнению с 3-й группой, в которой потерь на ранних сроках беременности не было, а в 4-й группе самопроизвольные аборты выявлены в 8,3%. У 13,3% женщин с ННСТ из 1-й группы наблюдались осложненное течение беременности в виде склонности к тромбозам: преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, субхориальная гематома в I триместре беременности. Кроме того, наряду с клиническими проявлениями тромботических осложнений плацентарного русла, носительство протромбогенных аллельных полиморфизмов MTHFR(677T). (G20210A), PAI-l (-675 5G/4G), (Arg506Gln)($p<0,0001$) как предиктор риска возникновения тромбозов свидетельствовало в 1-й и 2-й группах о возможной реализации на фоне стрессорных факторов (беременности) активации свертывания крови, несмотря на геморрагические проявления в течение жизни у пациенток с ННСТ [16]. У каждой второй пациентки с дисплазией соединительной ткани (в 1-й и 2-й группе 57,1 и 50,0% соответственно) выявлены полиморфизмы генов, кодирующих функционирование тромбоцитарных гликопротеинов (интегринов), за счет которых происходит взаимодействие рецепторов тромбоцитов с тканевыми белками по сравнению ($p<0,01$) с пациентками 3-й группы без ННСТ, у которых частота таковых оказалась статистически меньше (25,0%). При этом отсутствие искомых аллельных полиморфизмов в три раза чаще ($p<0,01$) выявлено у женщин без признаков дисплазии в сравнении с пациентками, имевшими ННСТ.

Одной из причин осложненной беременности может быть неадекватный кровоток во внутривор- синчатом пространстве, последствия таких нарушений проявляются в виде спорадической потери беременности и привычного выкидыша [2]. С ранних сроков беременности у пациенток с ННСТ обнаружена взаимосвязь высокой частоты угрозы самопроизвольно выкидыша с аномалиями расположения плаценты. Невынашивание беременности у них нередко сопровождалось формированием субхориальной гематомы, что по современным представлениям расценивается как маркер тромбогенности плацентарного русла и результат ишемического нарушения кровоснабжения синцитиотрофобласта [11]. Эпизоды кровотечений и патологическое прикрепление плаценты оказались сопряжены с признаками дисплазии у беременных-носительниц протромбогенных генов белков свертывания крови. Каждая четвертая пациентка (24,5%) с ННСТ и РМПП имела признаки угрозы самопроизвольного выкидыша в раннем сроке беременности ($p<0,0001$) по сравнению с пациентками без ННСТ (6,0%). У 7,8% беременных с ННСТ и РМПП в ранних сроках наблюдалась отслойка хориона с формированием субхориальной гематомы, тогда как у пациенток без ННСТ данное осложнение во время беременности не выявлено.

Астеники с миопическим нарушением зрения и пролабированием сердечных клапанов наиболее часто имели во время беременности субхориаль- ную гематому. При этом две трети беременных из 1-й группы ($p<0,0001$) имели аномалии расположения

плаценты в ранних сроках беременности в виде краевого или низкого прикрепления хориона в полости матки (67,3%) по сравнению с пациентками 3-й и 4-й групп (33,0 и 23,0%). В ходе исследования нами установлено, что эхографические показатели кровотока в маточных артериях у пациенток с ННСТ в I триместре беременности характеризовались повышенными значениями индекса резистентности, что свидетельствовало о низкой скорости кровотока и признаках вазоспазма в указанных сосудах (табл. 1).Кроме того, увеличение индекса резистентности у пациенток с ННСТ оказалось взаимосвязанным с некоторыми показателями системы свертывания крови и фибринолиза (с уровнем фибриногена, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК)) и имело средней степени корреляционную зависимость (табл. 2). В предыдущих исследованиях нами установлено, что именно в ранние сроки беременности важную роль в формировании состояния тромботической готовности имеет избыточная генерация тромбина [17] — ключевого фермента гемокоагуляции, особенности образования которого решающим образом сказываются на исходах гемостатических и воспалительных реакций [18]. У женщин с ННСТ в ранних сроках гестации отмечено увеличение эндогенного тромбинового потенциала (ЭТП) по сравнению с беременными без признаков ННСТ. Так, генерация тромбина была ускорена (p<0,02) у пациенток с ННСТ, что подтверждало увеличение параметров ЭТП в I триместре (1949,8±481,0 нмоль×мин) по сравнению беременными без ННСТ (1468,2±379,6 нмоль×мин). Для оценки состояния системы «мать-плацента» проведено определение концентрации прогестерона, синтезируемого в хорионе и децидуальной оболочке. Уменьшение значений (β-ХГЧ, оказывающего стимулирующее воздействие на функциональную активность желтого тела и непрерывную продукцию прогестерона, привело к снижению уровней прогестерона, вырабатываемого децидуальной оболочкой, у беременных с ННСТ.

Средние значения прогестерона в первой группе оказались меньше по сравнению с пациентками без ННСТ (3340,0±958,1 нг/мл и 3500,0±1430,62 нг/мл), что свидетельствовало о недостаточной перфузии субэндометриальных слоев вследствие тромботической готовности сосудистого русла. Одновременно отмечено втрое большее повышение (p<0,02) уровня ПЛ в первой группе (1,532±1,730 мг/л) по сравнению с пациентками без признаков ННСТ (0,500±0,303 мг/л). Известно, что ПЛ поддерживает функционирование желтого тела яичников и секрецию прогестерона при беременности [1]. Компенсаторные механизмы в маточно-плацентарном комплексе с ранних сроков проявились у пациенток с ННСТ не только увеличением ПЛ, но и в 2-кратном повышении (p<0,05) ЕЗ (7,066±5,713 нмоль/л и 3,962±4,755 нмоль/л), который улучшает ток крови по сосудам матки во время беременности, снижая их сопротивление. Во время первой и второй волн инвазии трофобласта у беременных с ННСТ выявлены признаки повышенной тромботической готовности в кровеносном русле, которые ассоциировались со снижением значений (β-ХГЧ по сравнению с женщинами без признаков дисплазии в 3-й и 4-й группах. Это подтверждало нарушение кровоснабжения сосудов эндометрия и трофобласта в ранних сроках беременности, и возможное снижение рецепторной чувствительности к гормонам фетоплацентарного комплекса.

Пациентки с ННСТ, имеющие признаки тромбинемии в плазме крови, превышающей нормативные значения для I триместра беременности (РФМК>11,0 мг / 100 мл), получали тромбопрофилактику инъекционными препаратами низкомолекулярного гепарина в инъекционной или трансдермальной форме гепарина. На фоне применения тромбопрофилактики, способствующей снижению тромботической готовности маточно-плацентарного русла, уровень (β-ХГЧ у них оказался

Таблица 1. Перцентильные значения индекса резистентности сосудов маточно-плацентарного русла у пациенток во время беременности в зависимости от выраженности ННСТ

Индекс резистентности сосудов	5-й перцентиль		50-й перцентиль		95-й перцентиль	
	ННСТ+ (n=24)	ННСТ- (n=16)	ННСТ+ (n=24)	ННСТ- (n=16)	ННСТ+ (n=24)	ННСТ- (n=16)
Правая маточная артерия	0,36	0,31	0,57	0,53	0,76	0,72
Левая маточная артерия	0,34	0,31	0,54	0,50	0,88	0,72

Таблица 2. Параметры индексов корреляции сосудистого сопротивления в зависимости от состоянии показателей системы коагуляционного гемостаза и фибринолиза у женщин групп сравнения

Показатель	Пациентки с ННСТ (n =46)	Пациентки без ННСТ (n =32)	Достоверность различий P
Фибриноген, г/л Правая маточная артерия	0,667	0,311	P_{1-2}< 0,04
Фибриноген, г/л Левая маточная артерия	0,589	0,332	н.д.
РФМК, мг/100 мл, Правая маточная артерия	0,554	0,051	P_{1-2}<0,01
РФМК, мг/100 мл, Левая маточная артерия	0,697	0,220	P_{1-2}<0,01

Таблица 3. Перцентильные значения уровня PAPP-A в 1 триместре у беременных в зависимости от выраженности ННСТ

Показатель (M± SD)	5-й перцентиль	25-й перцентиль	50-й перцентиль	75-й перцентиль	95-й перцентиль	Беременные
PAPP-A, МЕ/л	1,74	1,89-3,7	4,58-5,04	5,6-6,7	8,3-15,2	с ННСТ
MoM PAPP-A	0,68	0,98-1,07	1,53-1,58	1,61-1,76	2,9-3,2	(*n*=10)
PAPP-A, МЕ/л	1,52	1,74-1,83	2,68-3,57	4,6-7,3	7,6-8,7	без ННСТ
MoM PAPP-A	0,55	1,8-2,3	1,17-1,45	1,46-1,67	1,9-2,3	(*n*=10)



выше (рисунок) по сравнению с пациентками, у которых тромбопрофилактика по различным причинам не проводилась (*p*<0,05). При этом наилучшим сочетанием оказалось применение препаратов низкомолекулярного гепарина фраксипарин (Nadroparini calcium) (SANOFI-WINTHROP INDUSTRIE, Франция) по 0,3 мл раствора (2850 МЕ) в сутки в течение 10—14 дней на фоне синтетического аналога прогестерона — дидрогестерона, не оказывающего прокоагулянтного воздействия на систему гемостаза у беременных. При сравнении параметров (β-ХГЧ и PAPP-A в группах беременных при проведении тромбопрофилактики (*p*<0,001) оказалось, что использование препаратов гепарина способствовало повышению значений указанных гормонов у беременных с ННСТ соответственно (26,04±16,86 мМЕ/мл и 6,29±4,40МЕ/мл) по сравнению с беременными без тромбопрофилактики (22,05±18,89 мМЕ/мл и 3,94±2,18МЕ/мл), что являлось признаком улучшения кровотока в маточно-плацентарном русле. У пациенток, не применявших тромбопрофилактику, низкие значения β-ХГЧ явились косвенным подтверждением «обеднения» маточно-плацентарного кровотока и низкой стимуляции выработки β-ХГЧ вследствие нарушения кровоснабжения и перфузии субплацентарных-субэндометриальных слоев. Изучение уровней гликопротеинов, участвующих в модуляции иммунного ответа (PAPP-A, АФП) у пациенток с ННСТ (табл. 3), показало, что перцентильные значения и MoM (коэффициент отклонения значения от медианы) оказались выше у них по сравнению с беременными без ННСТ, что свидетельствовало о напряжении иммунологических механизмов у пациенток с ННСТ. Уровни корреляции параметров агрегационной активности тромбоцитов к коллагену и (β-ХГЧ были идентично высокими в группах женщин с ННСТ (*r*=0,609) и без ННСТ (*r*=0,734), но при этом установлена взаимосвязь между MoM PAPP-A у пациенток с ННСТ (*r*=0,657). В группе беременных без ННСТ такой закономерности не выявлено, и корреляционная зависимость между MoM PAPP-A и агрегационной активностью тромбоцитов к коллагену оказалась слабой *r*=0,333). Это может свидетельствовать о наличии у пациенток с ННСТ в ранних сроках беременности сочетания нарушений гемостаза и иммунологических дисфункций, в том числе и с вовлечением тромбоцитов, способствующих активации свертывающего каскада крови.

Заключение

Таким образом, у беременных с ННСТ изменения в системе гемостаза характеризуются повышенной тромботической готовностью крови с ранних сроков и ассоциируются с признаками первичной плацентарной недостаточности. Проведение медикаментозной тромбопрофилактики в сочетании с терапией дидрогестероном в I триместре беременности способствует улучшению функционирования маточно-плацентарного комплекса.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ

Я. Н. Шойхет, А. П. Момот, Л. П. Цывкина
ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава», Алтайский филиал ГУ «Гематологический научный центр РАМН», г. Барнаул, Россия

Антитромботические средства занимают одно из ведущих мест среди лекарственных препаратов, применяемых в практике врачей разных специальностей, в том числе терапевтов, кардиологов, сосудистых хирургов, ортопедов-травматологов, акушеров-гинекологов, анестезиологов-реаниматологов и других. Их назначают при острых и хронических патологических состояниях для профилактики и лечения венозных и артериальных тромбозов различного происхождения, деблокады зоны микроциркуляции в органах-мишенях при диссеминированном и локальном внутри-сосудистом свертывании крови инфекционно-септическсго, аутоиммунного и дисметаболического генеза и во многих других клинических ситуациях, в том числе пои оперативных вмешательствах на сосудах, сердце и других внутренних органах, гемодиализе, гемосорбции и т. д.

Современная антитромботическая терапия направлена на купирование или профилактику тромбозов в различных отделах кровеносного русла и построена по патогенетическому принципу. В основе использования той или иной группы препаратов лежит механизм тромбообразования, который имеет свои особенности в артериях и венах. Лекарственные средства, которые могут быть выбраны для данной цели, условно разделяются на следующие основные группы.

1. Ингибиторы функции тромбоцитов, из которых для пролонгированного эффекта используются ацетилсалициловая кислота и тиенопиридины - клопидогрель (плавике).
2. Препараты антикоагулянтного действия.
3. Средства, ослабляющие метаболические и воспалительные повреждения сосудистого эндотелия. К этой разнородной группе относятся поливитаминные препараты, устраняющие гипергомоцистеинемию (ангиовит и др.); нормализующие липидный обмен (статины и фибраты); средства, повышающие синтез в эндотелии оксида азота (L-аргинин) и ингибирующие образование эндотелина-1; препараты, уменьшающие действие провоспалителъных агентов (белков острой фазы, интерлейкинов и др.) на эндотелий.
4. Тромболитические препараты, используемые для растворения свежих тромбов и эмболов.

В настоящей публикации рассматриваются современные подходы и осложнения при применении антикоагулянтов-лекарственных препаратов, нарушающих на разных уровнях работу участников гемокоагуляционного каскада (свертывающей системы крови). В соответствии с последними представлениями их подразделяют на несколько групп.

I. Прямые антикоагулянты (гепарины), в том числе нефракционированный гепарин (НГ) и семейство низкомолекулярных гепаринов (НМГ), из которых наиболее часто в клинической практике в нашей стране применяют эноксапарин (клексан), надропарин (фраксипарин) и далтепарин (фрагмин).]

Многие лекарственные препараты, используемые в целях антитромботической профилактики и терапии, заменяют собой или способствуют активации физиологических антикоагулянтов как компонентов крови. Так, прямые антикоагулянты оказывают антитромботическое действие, блокируя в присутствии плазменного кофактора
- физиологического антикоагулянта антитромбина III (АТ III)
- активированные факторы Ха и Па и в меньшей стрпени IXa и XI (табл. 1).

Однако при кажущейся схожести прямых антикоагулянтов имеются существенные различия в строении, а также в механизмах и точках приложения действия между НГ и НМГ и между отдельными препаратами внутри семейства НМГ.

Нефракционированный гепарин быстро всасываемся после подкожного введения, время достижения максимальной концентрации в крови при этом составляет около 3-4 часов, а время полужизни - 0,5-2 часа. Метаболизируется он в печени и выводится в основном почками в виде деполимеризированного гепарина. Для профилактики тромбоэмболии легочной артерии и венозного тромбоза гепарин обычно вводят под; кожу живота по 5000 МЕ (1 мл) два-три раза в сутки. При необходимости пролонгации гепаринопрофилактики свыше 10-12 дней рекомендуется переход на НМГ или непрямые антикоагулянты. При массе тела ниже 50 кг суточную дозу гепарина снижают до 10000 МЕ. В случае необходимости пролонгации фармакологической профилактики непрямые антикоагулянты назначаются за 4-5 дней до предполагаемой отмены гепарина. Введение НМГ начинают через 8 часов после последней иньекции, гепарина. В случае выраженного

кровотечения на фоне терапии НГв/в вводят 1%-ный раствор протамина сульфата (1 мг нейтрализует 85 ЕД гепарина, т. е. для нейтрализации 100 ЕД гепарина вводят 0,1 мл 1%-ного раствора протамина сульфата).

Известно, что по мере уменьшения молекулярной массы гепаринов снижается зависимость их антитромботического действия от уровня АТ III, уменьшаются анти- На-активность и геморрагичность препаратов. В то же время повышаются удельный вес анти-Ха-активности и продолжительность лечебного эффекта. Кроме того, НМГ в меньшей степени, чем НГ, связываются с фактором Виллебранда, белками острой фазы и клет-

Таблица 1

Наиболее важные ингибиторы факторов свертывания

Ингибиторы	Специфичность (преобладающее ингибирование)	Стимуляция гепарином	Молекулярная масса, к/Да	Концентрация в плазме, мг/л	Период полужизни, ч
Антитромбин III	Фактор На, фактор Ха, фактор IXa	+	60	0,2	18-30
а2-макро-глобулин	Неспецифичный ингибитор	-	720	2	24-36
Ингибитор ТФ	Фактор Ха, комплекс факторов VIIa, ТФ	+	60	1 нг/л	
Кофактор гепарина II	Фактор На, химотрипсин-подобные ферменты	+	38	0,02	36
Ингибитор протеазы	Эластаза, фактор XIa	-	55	3	24-48
Протеин С	Фактор VIIIa, Va	-	62	0,004 мкг/л	8-10
Протеин S (кофактор протеина С)	Фактор VIIIa, Va	-	68	0,02 мкг/л	42
С1-ингибитор	Фактор XIIa, калликреин, фактор Xia, система комплемента	-	65	0,2	50-70

ками крови, в том числе с ПФ-4 (4 антигепариновым фактором тромбоцитов), вызывая реже, чем НГ, гепарининдуцированную тромбоцитопению.

Эти свойства, а также значительно менее выраженное по сравнению с НГ геморрагическое действие и отсутствие необходимости в текущем лабораторном контроле при использовании профилактических доз делают НМГ препаратами выбора при профилактике и лечении тромбозов и эмболии, особенно в острых ситуациях [1].

Приведем краткие сведения об особенностях применения второго поколения гепаринов - НМГ.

Эноксапарин натрия (enoxaparin sodium, синоним - клексан) - низкомолекулярный гепарин со средней молекулярной массой около 4,2 кДа. Инактивирует Ха фактор, в меньшей степени На фактор (тромбин). Соотношение активности анти-Ха к анти-IIа составляет около 3,7:1. Данные многоцентровых рандомизированных сравнительных клинических исследований являются доказательством преимущества использования эноксапарина по сравнению с нефракционированным гепарином и плацебо при проведении профилактики тромбоэмболических осложнений у хирургических и терапевтических больных (уровень убедительности доказательств ~ А).

Средняя максимальная анти-Ха-активность плазмы наблюдается через 3-4 часа после подкожного введения клексана. Время полужизни составляет около 4 часов. Эноксапарин натрия в основном метаболизируется в печени путем десульфатирования и/или деполимеризации с образованием низкомолекулярных веществ с очень низкой биологической активностью. Выведение через почки активных фрагментов препарата составляет примерно 10% от введенной дозы, и общая экскреция активных и неактивных фрагментов составляет примерно 40% от введенной дозы. Биодоступность эноксапарина натрия при подкожном введении, оцениваемая на основании анти-Ха-активности, близка к 100%. Для профилактики ТЭЛА и венозного тромбоза эноксапарин обычно вводят под кожу живота в суточной дозе 40 мг (4000 МН) в одну инъекцию. Длительность профилактики определяется моделью пациента. При необходимости пролонгации медикаментозной профилактики свыше 10-12 дней рекомендуется продолжение введения препарата в том же режиме либо переход на непрямые антикоагулянты при условии совместного применения этих препаратов в течение 4-5 дней. Лечебная доза эноксапарина рассчитывается в зависимости от массы тела (табл. 2).

В случае выраженного кровотечения в/в вводят 1%-ный раствор протамина сульфата (1 мг протамина нейтрализует анти-Па-активность, вызываемую 1 мг эноксапарина, высокие дозы нейтрализуют анти-Ха-активность эноксапарина на 60%).

Сходными с эноксапарином свойствами обладают дальтепарин натрия (фрагмин) и надропарин кальция (фраксипарин), режимы использования которых приведены в таблице 2.

1. Лечение венозного тромбоза и ТЭЛА НМГ (эффективность и безопасность - *уровень доказательств - IA):*

- эноксарапин -1 мг/кг (100 ед/кг) через 12 ч подкожно;
- надропарин - 90 ед/кг через 12 ч подкожно;
- дальтепарин -100 ед/кг через 12 ч подкожно.

2. Гепариноиды. Определенные сходства с гепаринами по точкам приложения действия в гемокоагуляционном каскаде имеют гепариноиды (гликозаминогликаны). Один из них - сулодексид (Wessel Due F). Он представляет собой смесь высокоподвижной гепариноподобной фракции высокой степени очистки и дерматан сульфата. Именно эти составляющие обеспечивают синергический эффект, повышающий антитромботический потенциал препарата при меньшем риске кровотечений в сравнении с НГ и НМГ. Сулодексид в присутствии АТ III оказывает умеренно выраженное анти-IIа и анти-Ха действие, обладает мягким антиагрегантным влиянием на тромбоциты и, кроме того, имеет достаточные ангиопротекторный и фибринолитический потенциалы, успешно восстанавливая кровоток в зоне микроциркуляции при ишемических, метаболических нарушениях (при диабетической микроангиопатии, фетоплацентарной недостаточности, обл итерирующих поражениях сосудов нижних конечностей) и многих других видах патологии; не нуждается в текущем лабораторном контроле [2].

3.Непрямые (оральные) антикоагулянты (АНД) - антагонисты витамина К (варфарин, варфарекс, маркумар и др.). Механизм действия АНД заключается в подавлении синтеза в печени витамин-К-зависимых компонентов свертывания крови, в т. ч. факторов II, VII, IX

Таблица 2

Рекомендуемые режимы тромбопрофилактики с использованием НМГ [3; 4; 5]

Препарат	Дозировка
Общая хирургия - средний риск венозных тромбоэмболии	
Далтепарин (фрагмин)	2500 ед. подкожно за 1-2 ч до операции и 1 раз в день после операции
Эноксипарин (клексан)	20 мг подкожно за 1-2 ч до операции и 1 раз в день после операции
Надропарин (фраксипарин)	2850 ед. подкожно за 2-4 ч до операции и 1 раз в день после операции
Общая хирургия - высокий риск венозной тромбоэмболии	
Далтепарин (фрагмин)	5000 ед. подкожно за 8-12 ч до операции и 1 раз в день после операции
Эноксипарин (клексан)	40 мг подкожно за 1-2 ч до операции и 1 раз в день после операции
Надропарин (фраксипарин)	2850 ед. подкожно за 2-4 ч до операции и 1 раз в день после операции
Травматология и ортопедия	
Далтепарин (фрагмин)	5000 ед. подкожно за 8-12 ч до операции, через 12-24 ч. после операции и далее 1 раз в день
Эноксипарин (клексан)	40 мг подкожно за 10-12 ч до операции и 1 раз в день после операции
Надропарин (фраксипарин)	54 ед/кг подкожно за 12 ч до операции и 1 раз в день после операции

Таблица 3

Схема перевода с кумариновых препаратов на гепарины в период перед операцией [5]

Дней до и после операции	Варфарин или его аналоги	Лечебные дозы НГ или НМГ
5 дней до операции	Применяется последняя доза, если МНО менее 3,0	За 4-5 дней до процедуры, начало сразу после пропущенной дозы варфарина
4 дня до операции	Применяется последняя доза, если МНО менее 2,5	За 4-5 дней до процедуры, начало сразу после пропущенной дозы варфарина
3 дня до операции	Не применяется	Лечебная доза в два приема - утром и вечером
2 дня до операции	Не применяется	Лечебная доза в два приема - утром и вечером
1 день до операции	Не применяется	Лечебная доза однократно - по крайней мере за 18 ч до процедуры
В день операции	Не применяется	После процедуры лечебная доза вводится не менее чем через 12 ч
Спустя 1 день	Лечебная доза	Лечебная доза в два приема - утром и вечером
Спустя 2 дня	Лечебная доза	Лечебная доза в два приема - утром и вечером
Спустя 3 дня	Лечебная доза	Продолжается до достижения терапевтического уровня МНО (более 2,5) и применяется в сочетании с варфарином в течение 2 дней

и X. В результате лечения АНД нарушается карбоксилирование молекул указанных выше белков, и они поступают в кровоток в виде «недостроенных» субстанций со сниженной коагуляционной активностью (так называемые PIVKA). Однако параллельно со снижением коагуляционного потенциала крови при лечении АНД нарушается продукция клетками печени витамин-К-за- висимых физиологических антикоагулянтов - протеинов С и S, что может стать причиной рикошетных «варфариновых» тромбозов в первые дни применения кумаринов. АНД применяют для пролонгированной (месяцы, годы) терапии и профилактики тромбоэмболии при текущем лабораторном контроле МНО [6]. При необходимости оперативного вмешательства у пациентов, получающих кумарины, используется маневр с заменой этих антикоагулянтов на гепарины (табл. 3).

4. Новое поколение антикоагулянтов однонаправленного действия. Эта подгруппа включает в себя синтетические препараты, отличающиеся от предыдущих тем; что они точечно влияют на отдельные компоненты гемокоагуляционного каскада и блокируют не несколько, а лишь одну мишень - один из факторов свертывания.

К прямым ингибиторам фактора Ха относят синтетический пентасахарид фондапаринукс, или Арикстра (Arixtra) [7]. Он нейтрализует этот коагуляционный белок, связывая его с ATIII. Фактор Ха является единственной мишенью фондапаринукса (табл. 4).

К основным отличительным свойствам фондапаринукса относят [8]:

- хорошо предсказуемый и воспроизводимый эффект;

Таблица 4

Сравнительная оценка свойств фондапаринукса и НМГ

Показатели	Фондапаринукс (Арикстра)	НМГ
Молекулярная масса	1728 кДа	Средняя 4000-5000 кДа (от 2000 до 10 000 кДа)
Источник	Химический синтез. Отсутствие потенциального загрязнения патогенами	Получается из нефракционированного гепарина – компонента слизистой оболочки кишечника свиней
Дискретность	Гомогенный – однородная химическая структура	Гетерогенные – смесь полисахаридов
Мишени	Ингибиция фактора Ха	Ингибиция факторов Ха, Па, IXа
Биодоступность (при подкожном введении)	100 %	100 %
Связывание с белками	Нет	Незначительное
Тромбоциты	Не оказывает влияния	Могут влиять на функцию и агрегацию
Индукция ГИТ	Не связывается с IV фактором тромбоцитов; ГИТ не вызывает	Связывается с IV фактором тромбоцитов; может вызвать перекрестную ГИТ
Время полувыведения, кратность введения	15-20 ч; инъекция 1 раз в сутки	Около 4 ч; может быть необходимо двукратное введение в течение суток

- не образует метаболитов;
- выводится преимущественно почками;
- линейная дозозависимая кинетика;
- пиковые концентрации достигаются через 1-3 ч после подкожного введения;
- время полураспада -15-20 ч;
- 100%-ная биодоступность при подкожном введении;
- удобство применения (1 раз/сут. подкожно);
- не вызывает изменения АПТВ, контроль эффектив- ности осуществляется путем определения динамики маркеров тромбинемии.

К прямым ингибиторам фактора Па относят гирулог, бивалирудин, лепирудин, мелаготран, ксимелаготран и другие препараты, единственной мишенью которых является фактор На (тромбин) [9].

Между тем в ряде ситуаций клиницисты сталкиваются с неэффективностью или осложнениями терапии антитромботическими препаратами той или иной группы, что становится препятствием для их дальнейшего применения и требует безотлагательного отказа от лечения либо замены данного препарата на более безопасный и эффективный.

Долгое время было принято считать, что одной из главных причин неудач антитромботической терапии являются ошибки в подборе оптимальной и безопасной лечебной дозы препарата. Так, неэффективность и тромботические осложнения объясняли недостижением эффективной лечебной дозы, а геморрагические - ее превышением (передозировкой). В пределах двух указанных параметров (эффективность и безопасность) врач выбирал вид и необходимую дозу лекарственного вещества с учетом клинической ситуации и состояния больного (группы риска тромботических осложнений).

Вторым важным фактором, определяющим успехи и неудачи антитромботической терапии, справедливо принято считать качество лабораторного контроля, в том числе правильность выполнения традиционно используемых для оценки адекватности и эффективности лечения маркеров тромбинемии (РФМК. комплекс «тромбин-АТ III», фрагменты протромбина, D-димер) и тестов, применяемых для мониторинга безопасности; в частности, при использовании прямых антикоагулянтов - АПТВ (удлинение по сравнению с контрольны

ми значениями не более чем в 2-2,5 раза) и непрямых антикоагулянтов - МНО (в терапевтическом диапазоне 2,0-3,0 при нормальных значениях 0,8-1,0) [10].

Однако даже тщательное выполнение указанного выше регламента не предотвращает в ряде ситуаций тромботических и геморрагических осложнений такой терапии. Предпосылкой к расшифровке некоторых патогенетических механизмов формирования неэффективности и осложнений антитромботической терапии стали учение о гематогенных тромбофилиях (ГТ) и их первая отечественная классификация, разработанные членом-корреспондентом РАМН, заслуженным деятелем науки РФ, лауреатом Государственной премии профессором З.С. Баркаганом [11; 12].

Стало очевидным, что неэффективность и тромботические осложнения при терапии прямыми антикоагулянтами, особенно НГ, могут возникать при ГТ, обусловленной дефицитом кофактора гепарина - физиологического антикоагулянта АТ III (табл. 1 и 5), а «варфариновые» рикошетные тромбозы и апикальные кожные некрозы - при ГТ, обусловленной дефицитом или молекулярными аномалиями витамин-К-зависимых физиологических антикоагулянтов протеинов С и S либо тяжелой степенью резистентности протеина С к фактору Va (аномалия Leiden) [13; 14].

Примечателен тот факт, что и в первом, и во втором случаях тромботические осложнения развиваются при полном соблюдении клинического и лабораторного регламента антитромботической терапии (адекватные дозы антикоагулянтов и должные гипокоагуляционные сдвиги в параметрах гемостаза).

Вторым аспектом проблемы осложнений антитромботической терапии по праву считается геморрагический синдром. Уже давно установлено, что гепарины способны вызывать у некоторых пациентов гиперагрегацию тромбоцитов и тромбоцитопению, однако до настоящего времени многие клиницисты забывают об этом грозном осложнении. Различают два вида гепарининдуцированной тромбоцитопении (ГИТ). Первый - ранняя (ГИТ-1), развивается в первые 3-4 дня с момента начала гепаринотерапии, обусловлена гиперагрегационным потреблением кровяных пластинок, протекает обычно бессимптомно, характеризуется умеренным снижением количества тромбоцитов в крови

Таблица 5

Осложнения при проведении гепаринотерапии и гепаринопрофилактики

Проявления	Возможные механизмы
Кровотечения	Ингибирование факторов На и Ха
Аллергические реакции	Дегрануляция тучных клеток при контакте с непарином
Тромбоцитопения	Образование аутоантител к фактору IV тромбоцитов и гепарину
Остеопороз	Ингибиция остеобластов
Артериальные тромбозы	Активация тромбоцитов и их агрегация
Гипонатриемия	Ингибиция высвобождения альдостерона
Резистентность к гепарину	Повышение уровня фактора IV тромбоцитов, острофазных белков (С-реактивный белок, фибриноген и др.), снижение активности АТ III

(выше 100х109/л), не приводит к тромботическим и геморрагическим осложнениям, не требует специального лечения. Второй вид - отсроченная (ГИТ-2), возникает через 5-14 дней с момента начала гепаринотерапии, связана с образованием антител (JgG) к комплексу «гепарин-антигепариновый фактор 4 тромбоцитов (ПФ-4)». Реакция «антиген-антитело» ведет к лабилизации тромбоцитов, их внутрисосудистой аглютинации, образованию тромбов и вторичной тромбоцитолении. При втором типе ГИТ число тромбоцитов снижается более глубоко (до 40х109/л и ниже). Этот тип характеризуется прогрессирующим течением и может сопровождаться как геморрагическими проявлениями (за счет суммации гипокоагуляционного эффекта гепарина и тромбоцитопении), так и развитием тромбозов и ишемий органов (за счет лабилизации тромбоцитов). По данным статистики, ГИТ возникает в 1-4% случаев на фоне гепаринотерапии, и у 1/3 от этого числа пациентов она сопровождается тяжелыми кровотечениями, тромбоэмболическими осложнениями, гангренами и инфарктами органов [15; 16; 17].

Точная диагностика ГИТ-2 может достигаться путем иммуноферментных определений антител к гепарину.

Ниже приведен анализ собственных наблюдений об осложнениях антикоагулянтной терапии у больных популяции Сибирского региона с углубленным изучением параметров разных звеньев системы гемостаза, включая исследование тромбогенных ДНК-полиморфизмов. Отметим, что в предыдущих публикациях сотрудников нашего центра уже приводились примеры тромботических осложнений гепаринотерапии у больных с дефицитом АТ III [14; 18].

За истекшие пять лет работы Алтайского филиала гематологического научного центра РАМН и лаборатории гемостаза ЦНИЛ Алтайского медицинского университета зарегистрировано 12 случаев развития ГИТ, в том числе у девяти женщин и трех мужчин. При этом на одного больного пришлось 2,1 эпизода тромбозов и, кроме того, на одну женщину - 1,8 случая невынашивания беременности. Отсроченная ГИТ (ГИТ-2) зарегистрирована у 9 больных (75%), ранняя (ГИТ-1) - у 3 пациентов (25%). Исходное число тромбоцитов в крови в среднем равнялось 211х109/л, к моменту развития ГИТ 5 оно снизилось по средним значениям до 56х109/л, поднявшись после выхода из ГИТ лишь до 142х109/л. Таким образом, степень снижения числа тромбоцитов составила 73,5%. ГИТ без клинических проявлений заре- гистрирована у двух больных, еще в трех случаях за- фиксированы геморрагические проявления микроцир- куляторного типа; дважды на фоне ГИТ развилась внутриутробная гибель плода (в 16 и 18 недель), однократно - тромбоз сосудов пуповины в 38 недель беременности, трижды - тромбозы шунтов и стентов венечных артерий; одна больная перенесла ишемический инсульт; один больной - инфаркт миокарда; трижды развилась ТЭЛА, в том числе фатальная с ретромбрзом кава-фильтра - у одной больной. Нами зарегистрированы четыре случая ГИТ при терапии нефракционированным гепарином, шесть случаев - при лечении фраксипарином, один случай на фоне применения клексана и один - на фоне приема фрагмина. Исследования по выявлению гематогенных тромбофилий у больных с ГИТ показали, что во всех случаях имелась комбинированная форма ГТ, в том числе анти тифосфолипидный синдром (АФС) был выявлен у половины пациентов, гипергомоцистеинемия - у пяти больных; генетические полиморфизмы (МТГФР, аномалия Leiden, PAI-1) - еще в 58,3% случаев (в разных комбинациях с ГГЦ, АФС и гиперагрегационным синдромом). Суммарно на каждого больного приходилось не менее трех тромбофилических гемостазиологических и генетических дефектов.

Для анализа частоты осложнений терапии АНД в разработку были отобраны больные с рецидивирующим тромбоэмболическим синдромом, получающие, антагонисты витамина К. У 10 из них зарегистрированы эпизоды кумариновых тромбозов. При тщательном лабораторном исследовании установлено, что у восьми пациентов из этой группы была найдена аномалия Leiden с резистентностью фактора Va к активированному протеину С и еще у двух - дефицит протеина С. Во всех 10 случаях при повторных обследованиях также найдена комбинированная форма ГТ (разные сочетания генетических дефектов с гипергомоцистеинемией, АФС, гиперагрегационным синдромом и т. д.). У всех больных на момент развития тромбозов поддерживался терапевтический уровень МНО (2,0-3,0), В восьми случаях кумариновые тромбозы проявились поражением глубокий вен нижних конечностей, в том числе в двух из них - с ТЭЛА, в одном - тромбозом вен правого предплечья. У двух пациентов длительный (более трех месяцев) прием непрямых антикоагулянтов сопровождался развитием некротизирующих язв нижней трети голени, которые трактовались как трофические, но были резистентны к терапии репарантами и быстро зарубцевались после отмены, антагонистов витамина К. Все 10 больных в последующем получали прямые антикоагулянты, гепариноиды, дезагреганты и ангиопротекторы, что исключило рецидивы ятрогенных тромбозов.

УДК 616-005.6:615.038:615.074

Новые оральные антикоагулянты

Н. Г. Хорев[1,2], А. П. Момот[1], Д. А. Залозный[2]

Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН
Кафедра факультетской хирургии им, проф. И. И. Неймарка с курсом хирургии ФИК и ППС ГОУ ВПО АГМУ Росздрава[2]; Барнаул, Россия

Антикоагулянты являются одними из наиболее часто используемых лекарственных препаратов в различных областях клинической медицины. Они включают средства, которые влияют на гемостаз и используются для предотвращения или лечения артериальных или венозных тромбозов и тромбоэмболий. Знание их свойств и навыки терапевтического применения необходимы, чтобы достигнуть максимальной пользы и ограничить частоту осложнений, связанных с кровотечениями. Настоящий обзор посвящен практическим вопросам использования некоторых новых антикоагулянтов, в том числе для перорального приема, которые недавно были введены в клиническую практику, а также тех из них, которые находятся на разных стадиях клинических испытаний.

Ключевые слова: профилактика тромбозов — артропластика — оральные антикоагулянты.

NEW ORAL ANTICOAGULANTS

N. G. Khorev[1,2], A. P. Momot[1], D. A. Zaloznyy[2]

Altai Branch of Hematological Research Center (HRC) RAMS[1]; Department of surgery prof, I.I. Nejmarka ROSZDRAV AGMU[2]; Barnaul, Russia

Anticoagulants are one of the most commonly used drugs in various fields of clinical medicine. They include drugs that influence on hemostasis and are used to prevent or treat arterial or venous thrombosis and tromboembolism. The knowledge of their properties and the skills of their therapeutic application are necessary to achieve the maximum benefits and limit the frequency of bleeding complications. This overview focuses on the practical use of some new anticoagulants, including oral medicines which have been recently introduced into clinical practice as well as those which are in various stages of clinical trials.

Keywords: prophylaxis of thrombosis—arthroplasty — oral anticoagulants.

ИСТОРИЯ: ОРАЛЬНЫЕ АНТИКОАГУЛЯНТЫ АНТАГОНИСТЫ ВИТАМИНА К

Оральные антикоагулянты как лекарственные препараты (дикумарол) были предложены в 1941 году Kari Paul Link, сотрудником факультета биохимии университета Висконсин, США. Link выделил дериваты кумарина из подгнившего сена, основным компонентом которого была трава донника. По-видимому, это было связано с серией кровотечений, зарегистрированных среди крупного рогатого скота на севере Соединенных Штатов и Канады в начаяе 1920-х годов [1]. В конце 1940-х годов Link приступил к разработке одного из ряда родственных соединений дикумарола, которое назвал warfarin (Wisconsin Alumni Research Foundation and the arin coming from the word coumarin). Хотя в первую очередь варфарин успешно использовался в качестве крысиного яда, он вошел в клинику в качестве орального антикоагулянта в 50-х годах прошлого столетия как более эффективный

Для корреспонденции

Момот Андрей Павлович – д.м.н., профессор, директор Алтайского филиала ГНЦ РАМН.

Адрес: 656024, Барнаул, *ул.* Ляпидевского, д. 1.

Телефон: (3852) 68-98-00 *(р.)*

E-mail: xyzan@yandex.ru

Статья поступила 23.10.2010, принята к печати 21.12.2010,

препарат с высокой биодоступностью и в значительной степени заменил дикумарол [1].

Механизм, посредством которого варфа- рин снижает свертывание крови, состоит в нарушении выработки витамин К-зависимых факторов свертывания крови — II (протромбина)» VII, IX и X. Варфарин ингибирует γ-карбоксилирование этих прокоагулянтов [2]. В настоящее время варфарин (с периодом полувыведения 35-45 часов) является наиболее часто назначаемым пероральным антикоагулянтом в мире. Тем не менее, другие аналоги дикумарола — phenprocoumon (с существенно большим периодом полувыведения — 80-270 часов) и acenocoumarol (период полувыведения короче — 8-24 часов) используются преимущественно в европейских странах. В частности, Phenprocoumon начал применяться в начале 1950-х годов и до сих пор широко используется в Европе из-за длительной циркуляции в крови, приводящей к меньшей изменчивости значений международного нормализованного отношения (МНО) по сравнению с коротко действующим вар- фарином [3]. Интенсивность действия витамин К-зависимых антикоагулянтов (ВКА) повсеместно контролируется путем расчета МНО по результатам протромбинового теста, который требует высокой воспроизводимости и стандартизируется по международному индексу чувствительности тромбопластина. Тем не менее, особенности питания, совместимость с лекарственными средствами и наличие сопутствующих заболеваний в пределах отдельных биологических особенностей организма приводят к вариациям значения МНО в размере до 11% [4].

Снижение числа тромбоэмболических событий, которое было достигнуто при применении ВКА, сопряжено с рядом нерешенных проблем, прежде всего с опасностью кровотечений. На фоне лечения ВКА может быть 10-17 случаев геморрагических осложнений на 100 пациентов в год, из которых 2-5% приходится на большие кровотечения, а в 0,5-1% случаях они могут быть фатальными [5]. Геморрагический синдром обычно связывается с избыточной антикоагуляцией (МНО > 3,0) [5], хотя серийные измерения МНО, как правило, слабый аргумент для прогнозирования последующего кровотечения.

Кроме того, существует индивидуальная чувствительность в ответе на прием ВКА (по результатам измерения МНО), что связано отчасти с генетической изменчиво- стью, связанной с мутациями в генах кодирования для цитохрома Р 450, полипептида С и витамин-К-эпоксид редуктазы [5-7]. Полипептид С является одним из основных печеночных ферментов, ответственных за метаболизм ВКА и витамин-К-эпоксид редуктазы. Мутации в полипептиде С связаны со снижением активности в метаболизме варфарина и его аналогов, и, следовательно, приводят к длительному периоду полураспада и избыточной антикоагуляции, если в дозу препарата не вносятся коррективы. Более сильное воздействие на результаты измерения МНО оказывает гетерозигота гена полипептида С в сравнении с носительством патологической гомозиготы [5]. Менее выраженная связь влияния на дозы ВКА отражена в полиморфизме генов витамин-К-эпоксид редуктазы. Сравнительно недавно предложен фамакогенетический алгоритм для предотвращения избыточной гипокоагуляции, но крупномасштабных клинических исследований с использованием этого алгоритма не проводилось [7]. Этот достаточно дорогой подход, однако он может привести к снижению числа кровотечений.

НОВЫЕ ОРАЛЬНЫЕ АНТИКОАГУЛЯНТЫ

Хотя ВКА являются весьма эффективными в предотвращении тромбоэмболических событий, они имеют узкий терапевтический диапазон и значительную индивидуальную чувствительность. Все это диктует необходимость регулярного мониторинга антикоагулянтов, что крайне затрудняет их применение на территориях, где такой мониторинг не организован или не качественен. Это послужило основанием для поиска новых антикоагулянтов, принимаемых per os. В настоящее время предложены две большие группы препаратов, оказывающих прямое ингибирующее действие на тромбин (фактор IIa) или фактор Xa **(табл. 1)**. Механизм действия новых пероральных антикоагулянтов представлен на **рисунке 1.**

Таблица 1

Оральные антикоагулянты

Субстанция	Эффективная доза	Время полужизни (часы)	Показания
Антагонисты витамина К (мишень — VKORC1)			
Warfarin (Coumadin®)	Дозировка по МНО	35-45	Утвержден как ОАК
Acenoeoumarol (Sinthrome®)	Дозировка по МНО	8-24	Утвержден как ОАК
Phenprocoumon (Marcumar®)	Дозировка по МНО	80-270	Утвержден как ОАК
Anisindione (Miradon®)	Дозировка по МНО	72-120	Утвержден как ОАК
ATI-5923 (ARYx Therapeutics)	Дозировка по МНО	Не определено	Испытания во II/III фазах ОАК
Ингибиторы фактора IIa (тромбина)			
Dablgatran etexilate (Pradaxa®)	150 или 220 мг один раз в день (профилактика ВТЭ)	12-17	Профилактика ВТЭ после операций на коленном и тазобедренном суставе* III фаза клинических испытаний ОАК
AZD-0837 (AstraZeneca)	150-450 мг (в фазе II)	Нет данных	II фаза испытаний ОАК
Sofigatran (MCC 977, Mitsubishi Pharma)	Нет данных	Нет данных	II фаза испытаний ТГВ
Ингибиторы фактора Xa			
Rivaroxaban (Xarelto®) Bayer Healthcare and Johnson & Johnson)	10 мг один раз в день (профилактика ВТЭ)	5-9	Профилактика ВТЭ после операций на коленном и тазобедренном суставе*. III фаза клинических испытаний ОАК
Apixaban (Bristol-Myers- Squibb and Pfizer)	2,5-5 мг 2 раза вдень (в фазе III)	9-14	Фаза III ОАК
Betrixaban (Portola Pharma ceuticals)	40-80мг 1 раз вдень (II фаза)	19	Фаза II ОАК
Eribaxaban (PD0348292, Pfizer)	0,1-2,5 мг 1 раз в день (II фаза)	Нет данных	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ после кардиоверсии
Edoxaban (DU-176b, Daiichj Sankyo)	30-40 мг 1 раз в день (II фаза)	Нет данных	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ
YM150 (Astellas)	30-40 мг в 1 раз день (II фаза)	Нет данных	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ, ОАК
LY517717 (Eli Lilly)	100-150 мг в 1 раз в день (II фаза)	27	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ
TAK-442 (Takeda Pharma ceutical)	20-240 мг ежедневно (II фаза)	Нет данных	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ
Ингибиторы фактора IXa			
Anti IXa:TTP889 (Transtech Pharma)	300 мг ежедневно	21-25	Фаза II клинических испытаний для профилактики ВТЭ

Примечание: VKORC1 (vitamin K epoxide reductase complex subunit 1) — витамиы-К-эпоксид редуктаза комплекс;
МНО — международное нормализованное отношение; ОАК—оральный антикоагулянт;
ВТЭ — венозная тромбоэмболическая болезнь; ТГВ—тромбоз глубоких вен; *—одобрено FDA.

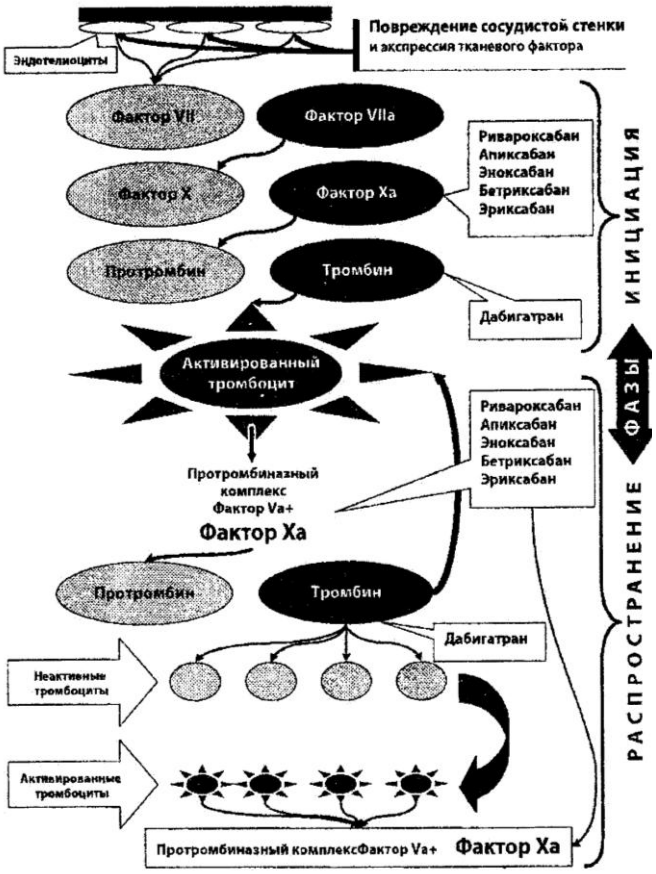


Рис. 1. Мишени действия новых оральных антикоагуляитов на гемостатические реакции.
— неактивная форма факторов свертывания и тромбоцитов,
— их активная форма.
Примечание: **Действие данных препаратов происходит как на фазе инициации свертывания, так и в фазе распространения коагуляции.**

Принципиальные различия

Название	Дабигатран	Ривароксабан
Механизм действия	Анти IIa	Анти Xa
Суточная доза	150 и 220 мг	10 мг
Биодоступность	Около 6,5%	60-80%
Метаболизм	Преимущественно почки	Преимущественно печень
Форма	Пролекарство — dabigatran etexilate	Лекарство — rivaroxaban
Испытание с эноксапарином	Не уступает	Превосходит

Первый прямой пероральный антикоагу- лянт — ксимелагатран (ximelagatran). В мае 2004 года этот препарат был одобрен в Европе для профилактики тромбоэмболических осложнений у пациентов, перенесших операцию на тазобедренном суставе. Однако из-за гепатотоксичности при длительном приеме [8] ксимелагатран был отозван с мировых рынков в начале 2006 года.

Прямые ингибиторы тромбина
Дабигатран — Dabigatran etexilate (Pradaxa®, Boehringer lngelheim)

Это вещество является прямым ингибитором тромбина (фактора IIa). Оно обладает высоким сродством к тромбину, характер взаимодействия которого является обратимым. Dabigatran etexilate коагуляцион — дабигатран (dabigatran) с низкой биодоступностью (около 6%). Поэтому необходимо назначение высоких доз препарата для поддержания терапевтической концентрации в плазме крови [9]. Следует отметить, что

усвоение в кишечнике dabigatran etexilate зависит от pH, поэтому уменьшение его поглощения может наблюдаться в присутствии ингибиторов протонной помпы. Пик концентрации антикоагулянта в плазме достигается в течение 2-3 часов после приема внутрь, а период полувыведения дабигатрана составляет около 12-17 часов, при этом примерно 80% препарата выделяется почками. Это должно учитываться при назначении препарата пациентам с нарушенной функцией почек, измеряемой по уровню экскреции креатинина. С другой стороны, это делает дабигатран сравнительно безопасным для назначения больным с умеренной печеночной недостаточностью, поскольку его метаболизм не зависит от цитохрома P 450 [10].

После успешного завершения III этапа клинических исследований у пациентов, перенесших тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава или полную замену коленного сустава (состояния, ассоциированные с высоким риском венозной тромбоэмболии), dabigatran etexilate был утвержден EMEA (European Medicinal Products Evaluation Agency) в качестве профилактического средства антикоагулянтой направленности в Европе (в апреле 2008 года), в Канаде (в июне 2008 года), в Австралии (в ноябре 2008 года) и в России (в сентябре 2009 года). Рекомендованная доза dabigatran etexilate (Pradaxa®) составляет 220 мг один раз в день (2 капсулы по 110 мг). Лечение препаратом должно быть начато с половинной дозы (110 мг) перорально между 1 и 4 часами после операции и должно продолжаться в течение 10 дней после замены коленного сустава и в течение 28-35 дней после тотального эндопротезирования тазобедренного сустава. Пациенты с повышенным риском кровотечения, в том числе пациенты старше 75 лет и больные со сниженным клиренсом креатинина, получают пониженную суточную дозу (150 мг), которую назначают по 75 мг два раза в день.

Важными двойными слепыми рандомизированными исследованиями III фазы в ортопедической хирургии были RE-NOVATE (эндопротезы тазобедренного сустава), RE-MODEL и REMOBILIZE (эндопротезы коленного сустава) **(табл. 2).** Дизайны RENOVATE и RE-MODEL были схожи и включали выявление связи дозировки дабигатрана per os по 220 или 150 мг в сутки по сравнению с 40 мг эноксапарина подкожно в сутки. В обоих исследованиях показано, что данный ингибитор тромбина не уступает эноксапа- рину [11, 12]. Испытание REMOBILIZE использовало те же оральные дозы dabigatran etexilate, но более высокие дозы эноксапарина (30 мг два раза в сутки). И в этом случае не удалось доказать, что дабигатран уступает эноксапарину [20].

Недавно опубликованы результаты III фазы клинических испытаний оральных ан тикоагулянтов RE-LY и RE-COVER, в которых приведены сведения об использовании прямого ингибитора тромбина у больных с фибрилляцией предсердий. В испытание RE-LY было включено 18113 пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий. Средний возраст больных составил 71 год (из них 63,6% мужского пола). Больные ранее получали ВКА. Средняя оценка больных по шкале $CHADS_2$ (congestive heart failure, hypertension, age >75 years, diabetes, and previous stroke/transient ischemic attack), используемых для стратификации риска у больных с фибрилляцией предсердий, составила 2,1 бала. В RE-LY исследовании изучали действие 2-х доз dabigatran etexilate (110 или 150 мг дважды в сутки) в сравнении с варфарином для вторичной профилактики инсульта и системных эмболий. Основные исходы (инсульт или системная эмболия) произошли у 1,69% больных в год, получавших варфарин, 1,53% — дабигатран дважды по 110мг и 1,11% — дабигатран дважды по 150мг ($p<0,001$). Частота кровотечений была ниже при дозе дважды по 110 мг (2,71% против 3,36% в год при использовании варфарина; $p = 0,003$) и статистически не различалась при дозе дважды по 150 мг (3,11% против 3,36% в год при приеме варфарина; $p=0,31$) [14]. В последних результатах RE-LY в подгруппе из 3623 больных с транзиторными ишемическими атаками, инсультом или у больных, подвергнутых кардиоверсии с низкими, средними и высокими значениями

Таблица 2

Результаты законченных испытаний III фазы исследований новых оральных анти коагулянтов

Испытание	Сравнение	Число больных	Суточная доза/уровень гипокоагуляции	Результат
			Dabigatran	
RE-NOVATE (тазобедренный сустав)	Dabigatran, Enoxaparin	3505	150 или 220 мг Dabigatran однократно; Enoxaparin 40 однократно, подкожно	Dabigatran не уступает Enoxaparin
RE-MODEL (коленный сустав)	Dabigatran, Enoxaparin	2076	150 или 220 мг Dabigatran однократно; Enoxaparin 40 мг однократно, подкожно	Dabigatran не уступает Enoxaparin
RE-MOB1LIZE (коленный сустав]	Dabigatran, Enoxaparin	2615	150 или 220 мг Dabigatran однократно; Enoxaparin 30 мг два раза подкожно	Dabigatran не уступает Enoxaparin
RE-LY (фибрилляция предсердий)	Dabigatran, Warfarin	18113	110 или 150 мг Dabigatran два раза; Варфарин (МНО = 2,0-3,0)	Dabigatran 110 мг два раза/сутки не усгупает, а 150 мг два раза/сутки — превосходит Варфарин
RE-COVER (острые ВТЭ)	Dabigatran, Warfarin	2564	150 мг Dabigatran два раза; Варфарин (МНО = 2,0-3,0)	Dabigatran 150 мг два раза/сутки не уступает Варфарину
			Rivaroxaban	
RECORD 1 (тазобедренный сустав)	Rivaroxaban, Enoxaparin	4541	10 мг Rivaroxaban однократно; Enoxaparin 40 мг однократно, подкожно	Rivaroxaban превосходит Enoxaparin
RECORD 2 (тазобедренный сустав)	Rivaroxaban, Enoxaparin	2509	10 мг Rivaroxaban однократно; Enoxaparin 40 мг однократно, подкожно	Rivaroxaban превосходит Enoxaparin
RECORD 3 (коленный сустав)	Rivaroxaban, Enoxaparirv	2531	10 мг Rivaroxaban однократно; Enoxaparin 40 мг однократно, подкожно	Rivaroxaban превосходит Enoxaparin
RECORD 4 (коленный сустав)	Rivaroxaban, Enoxaparin	3148	10 мг Rivaroxaban однократно; Enoxaparin 30 мг два раза подкожно	Rivaroxaban превосходит Enoxaparin
EINSTEIN-EXT (профилактика ВТЭ)	Rivaroxaban, Placebo	1197	20 мг Rivaroxaban однократно; placebo	Длительное использование Rivaroxaban как орального антикоагулянта превосходит placebo

CHADS2, а также почечной недостаточностью, случаи геморрагического инсульта отмечены у 2 при приеме 220 мг в сутки, у 5 — при приеме 300 мг в сутки и в 18 случаях — при приеме варфарина (p = 0,003 и p = 0,009, соответственно) [15-18].

В группе пациентов низкого риска (по шкале CHADS2 балы 0-1), получавших дабигатран в дозе 110 или 150 мг два раза в сутки, продемонстрировано преимущество препарата по сравнению с варфарином, которое более отчетливо наблюдалось по сокращению инсульта и системной эмболии в группе высокого риска (CHADS2 балы 3-6) [18].

Гепатотоксичности при лечении дабигатраном не наблюдалось. Единственным существенным побочным эффектом применения дабигатрана была диспепсия: 5,8% — у больных на варфарине, 11,8% и 11,3% — в группе дабигатрана в разных дозах. Это связывается со структурой dabigatran etexilate, которая включает винную кислоту для повышения кишечной абсорбции, поскольку биодоступность прямо связана с низкими значениями pH [19]. Кроме того, это может объяснить наблюдаемый более высокий уровень желудочно-кишечных кровотечений при дозировке 150 мг dabigatran etexilate два раза в сутки по сравнению с приемом варфарина [14].

В другом рандомизированном двойном слепом клиническом исследовании III фазы RECOVER изучали эффект dabigatran etexilate в дозе 150 мг дважды в сутки по сравнению с варфарином в целях вторичной профилактики венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭ) у 2564 больных с подтвержденным диагнозом тромбоза глубоких вен (ТГВ) и легочной эмболии (РЕ) [20]. Через 6 месяцев у 2,4% больных, получавших дабигатран, и у 2,1% пациентов, получавших лечение варфарином, зарегистрированы ВТЭ. На этой основе сделан вывод об отсутствии преимуществ dabigatran etexilate в дозе 150 мг дважды для вторичной профилактики ВТЭ по сравнению с принятым стандартом ВКА. Более того, не обнаружено существенной разницы в больших или малых кровотечениях между приемом дабигатрана 150 мг дважды и варфа- рина. Тем не менее, значительно больше пациентов (9%) прекратили лечение дабигатраном из-за неблагоприятных побочных эффектов (диспепсия) в сравнении с 6,8% больных, получавших варфарин.

В настоящее время продолжаются клинические испытания дабигатрана в лечении сердечно-сосудистых заболеваний в рамках исследования RE-VOLUTION, RE-MEDY (расширенное исследование RE-COVER), RESONATE (вторичная профилактика ВТЭ) и RE-DEEM (вторичная профилактика коронарных событий у больных с острым коронарным синдромом). Недавно появились результаты II фазы испытания RE-DEEM, в которой на протяжении 6 месяцев у 1861 больных после STEMI или NSTEMI изучали действие доз по 50, 75, 110 и 150 мг dabigatran etexilate дважды в сутки как дополнение антиагрегантной терапии по сравнению с плацебо. При этом общее увеличение числа кровотечений по сравнению с плацебо составило 1%. Рост эпизодов кровотечений носил дозозависимый характер: 0,5% — плацебо; 0,8% — 50 мг дважды в сутки; 0,3% — 75 мг дважды в сутки; 2,0% — 110 мг дважды в сутки и 1,2% — 150мг дважды в сутки [21].

В другом пилотном исследовании дабигатран рассматривается в качестве антикоагулянта при проведении чрескожных коронарных вмешательств по сравнению с энок- сапарином. В этом исследовании планируется охватить 50 пациентов (идентификатор: NCT00818753).

АЗД-0837 (AstraZeneca)

Оральный антагонист тромбина, содержащий ximelagatran. Нет данных, касающихся безопасного повышения содержания ферментов печени в ходе нынешних клинических испытаний II фазы. В кардиоваскулярной медицине AZD-0837 был исследован в рамках II фазы испытаний у 955 больных с фибрилляцией предсердий. Используемые дозы препарата — 150, 300, 450 мг однократно или 200 мг дважды в сутки, которые сравнивались с варфарином (МНО 2,0-3,0) на протяжении 3-9 месяцев. Частота эпизодов кровотечений при приеме AZD-0837 была такой же, так и при приеме варфарина [22]. Однако существовал более высокий уровень гастро-дуоденальных расстройств при лечении AZD-0837.

У 250 больных с фибрилляцией предсердий, как фактор риска инсульта, АЗД-0837 использовали в ходе II фазы испытаний. В этом испытании пациенты получили АЗД-0837 в дозировках 150 или 350 мг два раза в сутки, и его действие сравнивали с варфарином. Пациенты лечились в течение 3 месяцев. Препарат, ингибирующий тромбин, показал большую безопасность, поскольку кровотечение было отмечено у 6 больных, получавших АЗД-0837 по 150 мг два раза в сутки, по сравнению с 8 больными, проходивших терапию варфарином. Однако как дабигатран [15], так и АЗД-0837 в дозе 350 мг два раза в сутки показали увеличение числа кровотечений [23].

Недавно закончились, но еще не сообщались результаты II фазы изучения долгосрочной

безопасности (срок наблюдения — 5 лет) назначения АЗД 0837 по сравнению с варфарином у больных с фибрилляцией предсердий (идентификатор: NCT00645853). Клинические испытания III фазы данного исследования до сих пор не начаты (www.clinical trials, database accessed June 2010).

Ингибиторы фактора Ха

Ривароксабан — Rivaroxaban (Xarelto® Bayer Healthcare and Johnson & Johnson)

По механизму действия — это оральный прямой ингибитор фактора Ха, способный обратимо связываться с фактором Ха [24]. Ри- вароксабан имеет высокую биодоступность (60-80%) и достигает пика концентрации в плазме примерно через 3 часа после приема [25]. Существует доказательство того, что ривароксабан может связываться не только с фактором Ха, но и с факторами Ха и Va (протромбиназным комплексом). Это является одним из клинических преимуществ препарата по сравнению с гепарином, который имеет слишком большую молекулярную массу, чтобы блокировать фактор Ха в составе протромбиназного комплекса [24]. В отличие от дабигатрана, pH кишечной среды не влияет на всасывание данного препарата [26]. Период полувыведения ривароксабана составляет около 5-9 часов у больных с нормальной функцией почек и печени [25, 27]. Более высокие уровни ривароксабана могут быть у пациентов с нарушением почечной функции, которая до некоторой степени естественно возникает у пациентов пожилого возраста, или при нарушении функции печени, поскольку одна треть препарата выводится почками и около двух третей метаболизируется в печени, в первую очередь через цитохром P450 [28],

Главным результатом фазы III клинических испытаний, которые привели к разрешению применения ривароксабана, были программы клинических испытаний, в которых оценивалась эффективность ривароксабана по сравнению с эноксапарином у 1000 больных, перенесших операции на коленном суставе или тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава. Препарат был разрешен к применению в Канаде (в сентябре 2008 года), в Европе (EMEA) (в октябре 2008 года), в Австралии (в ноябре 2008 года) и в России (в декабре 2008 года). В марте 2009 года группа экспертов FDA рекомендовала ривароксабан к клиническому применению, хотя и с поправками на необходимость получения более подробной информации о безопасности препарата. Утвержденная в настоящее время дозировка ривароксабана для профилактики ВТЭ у пациентов, перенесших операции на бедре или коленном суставе, составляет 10 мг однократно через 6-10 часов после операции, затем ежедневно в течение 5 недель после вмешательства на тазобедренном и двух недель — на коленом суставах.

Утверждение в настоящее время правил приема ривароксабана строится на основе доз, которые были использованы в двойном слепом рандомизированном клиническом испытании RECORD 1, 2, 3, 4 **(табл. 2)**. В частности, в RECORD1 [29] и RECORD2 [30] изучали применение ривароксабана у пациентов, перенесших протезирование тазобедренного сустава, а в RECORD3 [31] и RECORD4 [32] — после операций на коленном суставе. Исследования RECORD1 и RECORD2 показали превосходство rivaroxaban до сравнению с 40 мг эноксапарина, вводимым однократно. Превосходство над эноксапарином, в том числе в дозировках 30 мг 2 раза в сутки (Североамериканские дозы эноксапарина), показано и в RECORD3 и RECORD4. Ривароксабан в целом был лучше эноксапарина во всех этих испытаниях, несмотря на незначительное, статистически незначимое увеличение числа кровотечений.

В клинике сердечно-сосудистых заболеваний ривароксабан все еще находится в фазе III клинических испытаний — для профилактики тромбоэмболических событий у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий (ROCKET-AF), для вторичной профилактики ВТЭ (EINSTEIN), первичной профилактики ВТЭ больных с острыми заболеваниями (MAGELLAN) и для вторичной профилактики неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных с острым коронарным синдромом (ATLAS 2 TIMI51).

В испытании MAGELLAN ривароксабан применяли в дозе 10 мг в течение 31-39 дней по аналогии с дозами, которые использовались в RECORD, в сравнении с 40 мг эноксапарина однократно подкожно за более короткий период (6-14 дней) у 8000 госпитализированных больных (идентификатор: NCT00571649). В исследовании ROCKET- AF предусмотрено изучение ривароксобана в дозе 20 мг в день по сравнению с варфа- рином с целевым диапазоном МНО 2,0-3,0 для профилактики тромбоэмболии у 14000 пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий (идентификатор: NCT00403767). Установлено, что ривароксабан имеет допол-

нительный эффект по сравнению со стандартным лечением аспирином или комбинацией аспирина с клопидогрелем для профилактики неблагоприятных сердечнососудистых событий у пациентов с недавним острым коронарным синдромом — клинические испытания III фазы ATLAS-2-TIMI 5I (идентификатор: NCT00809965). Данный препарат принимается по 2,5 мг или 5 мг два раза в день. Эта доза регламентирована IIb фазой клинических испытаний ATLAS-ACS- TIMI 46, которые показали не только тенденцию к снижению неблагоприятных сердечнососудистых событий, но и в зависимости от дозы — увеличение клинически значимых кровотечений [33].

В исследовании EINSTEIN-DVT было проанализировано действие ривароксабана в дозе 15 мг дважды в сутки в течение 3 недель, затем — 20 мг один раз в день на срок до 12 месяцев. В исследование были включены 2900 больных с острым тромбозом глубоких вен, но без ТЭЛА, и эффекты ривароксабана сравнивали с результативностью использования варфарина (vww.clinicaltrials; идентификатор: NCT00440193).

В исследование EINSTEIN-PE, идентичное по дизайну EINSTEIN-DVT, было включено 3300 пациентов с ТЭЛА (идентификатор: NCT00439777). Об окончательных результатах как EINSTEIN-DVT, так и EINSTEIN- PE не было доложено (на июнь 2010), однако результаты предварительного испытания EINSTEIN-EXTENSION (идентификатор: NCT00439725), в котором больные получали ривароксабан в дозе 20 мг в сутки в сравнении с плацебо, были приведены в 2009 году на ежегодном совещании Американского общества гематологов [34]. По результатам исследования среди 1197 пациентов со средней продолжительностью лечения 190 дней повторные ВТЭ зарегистрированы в 7,1% в группе плацебо и в 1,3%, получавших ривароксабан ($p < 0,001$) [34]. Не было существенных различий в числе крупных кровотечений, в то время как клинически значимые небольшие кровотечения были отмечены в 1,2% в группе плацебо, в отличие от 5,4% пациентов, проходивших тромбопрофилактику ри- вароксабаном [34].

Апиксабан — Apixaban (Bristol-Myers-Squibb and Pfizer)

Это оральный прямой ингибитор фактора Xa с биодоступностью при приеме per os около 50%. Апиксабан достигает своего максимального уровня в плазме через 3 часа после приема внутрь и имеет период полужизни около 9-14 часов. Как и ривароксабан, этот антикоагупянт метаболизируется в печени с участием цитохрома Р 450. Около 25% препарата выводится почками, остальная же часть выделяется через кишечник [35]. Апиксабан связывает как свободный фактор Xa, так и фактор Xa в связи с фактором V, что делает его схожим по действию с ривароксабаном.

Наиболее крупное двойное слепое рандомизированное клиническое исследование в фазе III с апиксабаном (ADVANCE) проведено в ортопедической хирургии. В нем не удалось установить преимущества данного антикоагулянта по сравнению с энокса- парином по числу небольших кровотечений при приеме 2,5 мг апиксабана дважды в сутки и 30 мг эноксапарина дважды в сутки после тотального эндопротезирования коленного сустава (2,9% на апиксабане против 4,3% на эноксапарине; $p = 0,03$) [36, 37]. Хотя продолжение испытаний в рамках того же исследования (ADVANCE-II) выявило превосходство апиксабана в дозе 2,5 мг дважды в сутки по сравнению с эноксапарином в дозе 40 мг однократно [38]. При таких дозировках кровотечения в случае применения апиксабана составили 3,5%, а в группе эноксапарина — 4,8% ($p = 0,09$) [38]. Достаточно интересные данные получены в рамках фазы II испытаний ADVANCE дозозависимого эффекта апиксабана (5, 10 или 20 мг дважды) у 520 больных. Влияния дозы апиксабана на вы- являемость глубокого венозного тромбоза определено не было, однако с увеличением дозы II фаза, 1238 больных после операции на коленном суставе) наблюдали рост кровотечений [39].

Апиксабан был первым из новых оральных антикоагулянтов, который был использован у больных с недавним острым коронарным синдромом, в сравнении со стандартной терапией аспирином или комбинацией аспирин + клопидогрель. Полученные результаты отражены в результатах двойного слепого рандомизированного клинического испытания фазы II APPRAISE-1. В нем показано дозозависимое уменьшение числа неблагоприятных сердечных событий при применении данного ОАК [40]. В настоящее время продолжается III фаза клинических испытаний APPRAISE-II, в которых проводятся исследования апиксабана в дозе 5 мг дважды в сутки для профилактики острых ишемических событий у 10800 пациентов с коронарным синдромом в сравнении с плацебо, когда использовалась стандартная антиагре- гантная терапия (www.clmicaltrials.gov; идентификатор: NCT00831441). Апиксабан применялся также в

клинических исследованиях для профилактики инсульта и системной тромбоэмболии у 15000 пациентов с фибрилляцией предсердий (ARISTOTLE trial; идентификатор: NCT00412984). В данном трай- ле действие апиксабана в дозе 5 мг два раза в сутки сравнивали с эффектами варфарина (МНО = 2,0-3,0). В рамках исследований III фазы AVERROES проводится также сравнение больных с фибрилляцией предсердий, которым нежелательно назначение варфа- рина, а достаточно использования аспирина. В этом испытании апиксабан назначали в дозе 5 мг дважды в сутки по сравнению с аспирином (идентификатор: NCT00496769).

Далее, апиксабан в дозе 2,5 мг дважды в сутки применяли в клиническом исследовании для профилактики ВТЭ у 6524 больных с острыми неотложными состояниями по сравнению с 40 мг эноксапарина однократно. Это III фаза клинических испытаний ADOPT (идентификатор: NCT00457002). Наконец, апиксабан в настоящее время изучается также в фазе III клинических испытаний для профилактики рецидива ВТЭ у 2900 пациентов с установленным диагнозом тромбоза глубоких вен или ТЭЛА (идентификатор: NCT00643201).

Эдоксабан — Edoxaban (DU-176b, Daiichi Sankyo)

Это еще сравнительно мало изученный прямой оральный ингибитор фактора Ха. Эдоксабан был создан на основе парентерального прямого ингибитора фактора Ха (DX-9065a) путем замены менее половины фрагментов аминогрупп [41]. Фармакологические данные о биодоступности при приеме внутрь, периодах полужизни и выведения до сих пор не опубликованы, но два исследования фазы II клинических испытаний были зарегистрированы в дозировках эдоксабана 5, 15, 30 или 60 мг однократно или два раза в сутки. В одном из испытаний фазы II эдоксабан вводили 523 больным, перенесшим операцию по поводу замены коленного сустава. Снижение числа ВТЭ зависело от дозы препарата без увеличения числа зарегистрированных кровотечений [42]. В других сообщениях на этапе фазы II эдоксабан был исследован в дозах 30 или 60 мг однократно или дважды в сутки по сравнению с варфарином у 1146 пациентов с фибрилляцией предсердий. Доза препарата 60 мг дважды в сутки приводила к отчетливому увеличению эпизодов кровотечений, и исследование в этом направлении было прекращено [43], однако дозы 30 и 60мг однократно оказались безопасными и хорошо переносимыми по сравнению с варфарином. Интересно, что дозировка 30 мг два раза в сутки показала значительное увеличение эпизодов кровотечений [43].

На основе этих данных Daiichi Sankyo недавно объявила о начале большого двойного слепого рандомизированного клинического исследования III фазы испытаний (ENGAGE AF-TIMI 48), в которое включены 16500 пациентов с фибрилляцией предсердий, где эдоксабан будет использован в дозах 30 или 60 мг однократно по сравнению с варфарином (идентификатор: NCT00781391).

Бетриксабан — Betrixaban (Portola Pharmaceuticals)

Препарат является прямым ингибитором фактора Ха с обратимым механизмом действия. Биодоступность его при приеме внутрь составляет 47%, период полужизни — около 19 часов, он почти исключительно элиминируется с желчью [44, 45]. Бетриксабан был исследован в проспективном рандомизированном испытании фазы II у 215 пациентов, перенесших эндопротезирование коленного сустава (EXPERT trial), в дозах 15 или 40 мг два раза в сутки в сравнении с 30 мг эноксапарина в сутки в течение 10-14 дней. По результатам исследований дозозависимый эффект получен при оценке генерации тромбина и по анти-Ха эффекту [45]. Наряду с этим наблюдалась хорошая переносимость нового препарата [45].

При сердечно-сосудистых заболеваниях бетриксабан был изучен у 500 пациентов с фибрилляцией предсердий (Explore Ха, идентификатор: NCT00742859), а результаты недавно были доложены на Американской ассоциации кардиологов (American College of Cardiology) в Атланте 14-16 марта 2010 года. Бетриксабан применяли в дозах 40, 60 или 80 мг однократно и сравнивали с варфарином (МНО = 2,0- 3,0). По результатам исследования определено статистически достоверное меньшее число больших и малых кровотечений бетриксабана в дозе 40 мг в сравнении с использованием ингибитора витамина К (p=0,035).

Эриаксабан — Eribaxaban (PD0348292, Pfizer)

Данный оральный ингибитор фактора Ха в настоящее время находится в фазе II клинических испытаний. Информация об этом веществе немногочисленна [46]. В рамках клинических испытаний для профилактики ВТЭ у пациентов,

перенесших операцию по замене коленного сустава, обследовано 1411 пациентов, получавшие 0,1, 0,3, 0,5, 1 или 2,5 мг эри- аксабана однократно в сутки или 30 мг эноксапарина дважды в сутки. Все дозы нового препарата хорошо переносились, и статистически значимой зависимости увеличения общего числа кровотечений от дозы не наблюдали [47].

LY517717 (Eli Lilly)

Это оральный прямой ингибитор фактора Ха с обратимой связью по механизму действия и длительным периодом полужизни — около 27 часов [48]. Время от приема антикоагулянта до пика его концентрации в плазме, как было сообщено, составляет интервал от 0,5 до 4 часов, а основной путь выведения — через желудочно-кишечный тракт. На сегодняшний день существует только одно клиническое испытание фазы II (www.clinicaltrials), результаты которого открыты в июне 2010. LY517717 применяли у 507 пациентов, перенесших операцию протезирования коленного сустава, в дозах 25, 50, 75, 100 или 150 мг однократно по сравнению с эноксапарином в дозе 40 мг однократно [48]. Результаты обнаружили прямую зависимость снижения числа тромбоэмболических событий в зависимости от принимаемой дозы, из которых 100, 125 и 150 мг LY517717 не уступали по эффективности эноксапарину [48].

YM 150 (Astellas)

YM150 является прямым ингибитором фактора Ха с высокой биодоступностью при приеме per os. Кроме результатов доклинических испытаний [49], подробная оценка фармакологических данных о YM150 до июня 2010 не была опубликована. Вместе с
тем, YM150 был применен у 174 пациентов, перенесших операцию протезирования тазобедренного сустава, в фазе II клинических испытаний ONYX [50]. Доза антикоагулянта в этом исследовании составляла от 3 до 60 мг однократно в сутки по сравнению с 40 мг эноксапарина однократно в сутки в течение 7-10 дней после операции. По полученным результатам определено дозозависимое уменьшение эпизодов ВТЭ с наибольшей эффективностью при суточной дозе YM150 от 30 мг и выше [50].

На II этапе исследования ONYX-2, проведенного у 1139 пациентов, перенесших эндопротезирование тазобедренного сустава, YM150 принимался в дозах от 5 до 120 мг однократно в сутки (идентификатор: NCT00353678). Конечной точкой при оценке эффективности в этом испытании были эпизоды ТГВ, симптоматические ВТЭ и ТЭЛА с летальным исходом в течение 10 дней. Эти показатели колебались от 13,3% до 31,7% и значительно снижались с увеличением дозы YM150 [51]. II этап оценки YM150 в ортопедической хирургии проводится в настоящее время в испытании PEARL (идентификатор: NCT00595426). В него включены 670 пациентов, перенесших операцию замены коленного сустава. В сердечнососудистой медицине YM150 был исследован в клинической фазе II этапа у 448 пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий в трех различных режимах дозирования в сравнении варфарином (идентификатор: NCTG0448214). О результатах этого исследования до июня 2010 года не сообщалось. В настоящее время YM150 опробован на II этапе исследования RUBY-I (идентификатор: NCT00994292) с участием пациентов с острым коронарным синдромом (www.clinicaltrials. gov; идентификатор: NCT00994292) и OPAL-2 (идентификатор: NCT00938730) и пациентов с фибрилляцией предсердий.

TAK-442 (Takeda Pharmaceutical)

Еще один новый оральный прямой ингибитор фактора Ха с конкурентным механизмом ингибирования [52, 53]. ТАК-442 был исследован в фазе II клинических испытаний в дозе 40 или 80 мг однократно в сутки и 10, 20, 40 или 80 мг два раза в сутки по сравнению с 30 мг эноксапарина дважды в сутки в течение 10 дней у 1038 пациентов, перенесших протезирование коленного сустава (идентификатор: NCT00641732). По результатам исследования все использовавшиеся дозы ТАК-442 оказались более эффективны по предотвращению ВТЭ, чем эноксапарин. Интересно, что частота кровотечений не носила дозо-зависимый характер [54]. В сердечно-сосудистой медицине ТАК-442 сейчас испытывается у 2250 пациентов с острым коронарным синдромом в качестве дополнительной терапии к стандартной помощи. Дозы ТАК-442, используемые в этом испытании, находятся в диапазоне от 20 до 240 мг в сутки и сравниваются с плацебо (идентификатор: NCT00677053).

Другие антикоагулянты на ранних стадиях клинической разработки

ATI-5923 (Tecarfarin) описан как селективный оральный ингибитор фермента витамин-К- эпоксид редуктазы ВКА, который, в отличие от варфарина, не метаболизируется через цитохром Р 450. Это

позволяет избежать ряда потенциальных межлекарственных взаимодействий. В недавнем исследовании 66 пациентов с фибрилляцией предсердий и с низким и средним риском развития инсульта были переведены с варфарина на Tecarfarin. Показано, что Tecarfarin может быть более безопасным и более эффективным в рамках целевого значения МНО = 2,0-3,0 [55]. Tecarfarin в настоящее время проходит клинические испытания II/III фазы у 600 пациентов с фибрилляцией или трепетанием предсердий, с сердечными клапанами, ВТЭ, перенесшими инфаркт миокарда и кардиомиопатиями, которым требуется постоянный прием антикоагулянтов. Эффект от лечения Tecarfarin будет сравниваться с варфарином (идентификатор: NCT00691470).

Следующий препарат — TTP889 (Transtech Pharma) относится к первым оральным антикоагулянтам — прямым ингибиторам фактора IXa. Он достигает пика концентрации в плазме через 3 часа после приема и имеет период полужизни 21-25 часов [56]. Действие TTP889 оценивалось для профилактики ВТЭ у 260 пациентов, оперированных по поводу перелома бедра [56]. TTP889 использовался в дозе 300 мг однократно в сутки по сравнению с плацебо и не показал эффективности в предотвращении эпизодов ВТЭ [56]. В этом контексте следует отметить, что существуют также и другие, парентеральные прямые ингибиторы фактора IXa, находящиеся в стадии клинической разработки.

Идрапаринукс (Idraparinux, Sanofi-Aventis) относится к препаратам пролонгированного действия и характеризуется как антитромбин III — зависимый ингибитор фактора Xa. Идрапаринукс относится к пентасахаридам с очень высоким сродством к антитромбину III и реализует свое антикоагулянтное действие лишь через этот компонент плазмы крови. Идрапаринукс, как и свой предшественник фондапаринукс, вводится подкожно и показывает пиковые концентрации в крови спустя примерно 2,5 часа, а период полужизни составляет примерно 100-120 часов. Поэтому препарат вводится один раз в неделю, что достаточно для обеспечения терапевтического уровня подавления фактора Xa [59]. Вместе с тем, имеется предостережжение, что после неоднократных еженедельных введений период полужизни может быть увеличен очень серьезно — до 66,3 дней [59]. В рамках испытания AMADEUS идрапаринукс (2,5 мг один раз в неделю) сравнивали с кумаринами у пациентов с фибрилляцией предсердий [60]. Определено, что в дополнение к показаниям для долгосрочного использования варфарина и его аналогов, пациенты должны иметь, по крайней мере, один из следующих факторов риска: предыдущий ишемический инсульт, транзиторную ишемическую атаку или системные эмболии, гипертонию, дисфункцию левого желудочка, возраст старше 75 лет, либо сахарный диабет или ишемическую болезнь сердца. Испытание было остановлено после включения 4576 пациентов в связи с повышенным риском кровотечений, связанных с лечением идрапаринуксом [60]. Данные испытания AMADEUS тем не менее продемонстрировали эффективность идрапа- ринукса для предотвращения ВТЭ по сравнению с оральными ВКА. Организовано исследование биотинилированной версии идрапаринукса (idrabiotaparinux) для профилактики ВТЭ после произошедшей ТЭЛА [59, 61]. В исследовании EQUINOX проводится I фаза клинических исследований биотинилированного идрапаринукса у пациентов с клинически выраженным ТГВ, в котором данный препарат сравнивается со своим предшественником, в том числе по купированию действия идрабиотапаринукса введением авидина [62]. В испытании CASSIOPEA проводится клиническая оценка идрабиотапаринукса у 3200 пациентов с ТЭЛА по сравнению с оральными ВКА (идентификатор: NCT00345618) и у 9600 у пациентов с фибрилляцией предсердий — испытание BOREALISAF (идентификатор: NCT00580216).

Мониторинг новых пероральных антикоагулянтов

Необходимость разработки новых пероральных антикоагулянтов привело к спросу на создание безопасных веществ с высокой биодоступностью при приеме внутрь, которые не требуют лабораторного контроля, критически важного, в частности, для лечения варфарином и его аналогами. Регистрация в России таких новых пероральных антикоагулянтов как дабегатран (прадакса) и ривароксабан (ксарелто), которые недавно вошли в клиническую практику, привела к революционным изменениям в области антитромботической профилактики, более либеральной к лабораторному мониторингу, хотя пока и ограничивающейся областью ортопедических вмешательств.

Тем не менее, вопросы лабораторного контроля эффектов новых пероральных антикоагулянтов не

сняты с внимания специалистов. Отмечается, что в случае необходимости некоторые тесты коагулограммы могут быть использованы для оценки активности фактора Ха и тромбина в процессе такой терапии. Показано, что экариновое время свертывания крови (ЭВС) с применением коагулазы из яда эфы песчаной (Echis multisquamatus) оценивает активность тромбина в плазме и отображает линейную дозозависимую реакцию в терапевтических концентрациях дабигатрана [19]. Однако серьезных клинических испытаний для выявления оптимального ЭВС при достижении наилучших эффектов антикоагулянта с минимально возможным риском кровотечения еще не проведено. Таким образом, подход, основанный на регулярных измерениях ЭВС, пока не может быть рекомендован на данном этапе. Тромбопластиновый реагент Неопластин (Neoplastin, Dade Behring), применяемый при оценке протромбинового времени свертывания (ПВС), показал дозозависимую связь с активностью ривароксабана в плазме крови и поэтому рекомендован для оценки влияния антикоагулянтных эффектов ривароксабана [63]. Однако при этом указывается, что результаты ПВС должны учитываться в измерении времени свертывания, а не в МНО, поскольку последнее адаптировано лишь для кумаринов — ингибирующих синтез витамин-К зависимых факторов свертывания крови. В заключение по этому разделу можно отметить, что никаких серьезных клинических исследований для установления оптимального уровня как ЭВС, так и ПВС с этими оральными антикоагулянтами не проводилось, и вопрос лабораторного мониторинга остается открытым.

Будущее оральных антикоагулянтов в профилактике и лечении артериальных и венозных тромбозов

После почти 60 лет применения оральных антикоагулянтов, механизм действия которых опосредован антагонизмом к витамину К, два новых пероральных антикоагулянта с различными механизмами действия были утверждены в 2008 году в Канаде, Европе (в т.ч. в России) и Австралии для профилактики тромбоэмболии у пациентов, перенесших операцию по замене тазобедренного или коленного сустава. Оба препарата в настоящее время находятся в обширных клинических исследованиях у больных с сердечнососудистыми заболеваниями с особым упором на профилактику системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий. Кроме того, пероральные антикоагулянты проходят испытания у больных с острым коронарным синдромом и для профилактики ВТЭ.

По сравнению с варфарином и его аналогами прямые ингибиторы тромбина и фактора Ха имеют общие благоприятные фармакологические профили. Они обладают прямым действием, не зависят от уровня плазменного антитромбина III, представлены малыми молекулами с предсказуемой фармакодинамикой, что позволяет использовать их однократно или два раза в день при фиксированных режимах дозирования без необходимости, в большинстве случаев, регулярного контроля за их антикоагулянтными эффектами. Пока официальные показания для их применения ограничиваются ортопедическими вмешательствами (артропластикой тазобедренного или коленного сустава). Однако в дальнейшем клинические испытания и регистрация показаний к применению могут привести к их использованию у детей, пожилых пациентов, беременных, больных с почечной и печеночной недостаточностью и др. Короткий период полужизни новых пероральных антикоагулянтов может помочь предотвратить клинически значимые кровотечения, которые наблюдаются у пациентов, принимающих варфарин, а также обеспечить длительную антитромботическую защиту у лиц, резистентных к приему кумаринов, например, при отсутствии реакции МНО при недельной дозе варфарина более 70 мг.

Другая проблема, которая требует тщательного анализа приемлемости для лечения пациентов, заключается во взаимодействии новых пероральных антикоагулянтов с другими лекарственными препаратами. Например, дабигатран взаимодействует с амиодароном, верапамилом и хинидином, принадлежащим к группе ингибиторов Р-глико-протеина. Ривараксобан также имеет лекарственные взаимодействия. В частности, ингибиторы CYP3 A4 (рифампицин) либо Р-гликопротеина (кетоконазол, эритромицин, кларитромицин, ринтонавир) изменяют уровни ривароксобана в плазме крови. Поэтому, как и при лечении варфарином, так и новыми ОАК должны быть изучены и учтены возможные взаимодействия.

Еще одна потенциальная проблема, которую необходимо решать в будущем, заключается в выборе антидотов при применении новых пероральных антикоагулянтов в клинических ситуациях, которые требуют немедленного гемостаза, например, при тяжелых кровотечениях. В настоящее время нет каких-либо рекомендаций по этому поводу Тем не менее, применение рекомбинантного фактора VIIa (Но- воСэвен®) или

концентрата активированного протромбинового комплекса (FEIBA®) может быть перспективным, однако нет достаточных данных, чтобы рекомендовать их к использованию для этой цели [28]. Другие решения, находящиеся на стадии доклинических исследований, состоят в получении из плазмы фактора Ха с дальнейшей его химической модификацией для конкурентного связывания его ингибитора [64]. Кроме того, разрабатываются антидоты на базе с использованием специфических анти-ДНК или РНК-антител [57]. С другой стороны, использование системы биотин/авидин обеспечивает быструю инактивацию этих лекарственных препаратов [59, 61]. В будущем новые биотехнологические решения могут дать перспективные идеи для решения проблемы фармакологически обусловленных кровотечений.

Вполне вероятно, что стратегия прямого ингибирования тромбина или прямое подавление фактора Ха с использованием препаратов, применяемых per os, в ближайшем будущем явятся альтернативой варфарину. Кроме того, различные фармакологические свойства, особенно метаболизм и пути инактивации препарата, могут привести к предпочтительному использованию новых оральных антикоагуляитов у определенных групп больных (например, больных с нарушениями печени или почек).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Last J. A. The Missing Link The Story of Karl Paul Link II Toxicol Sci. — 2002. — Vol, 66. —* JR *4-6.*
2. *Whitlon D. S., Sadowski J.* A., *Suttie J. W. Mechanism of coumarin action: significance of vitamin K epoxide reductase inhibition//Biochemistry. — 1978. — Vol 17.— P. 1371- 1377.*
3. *Kristiansen C., Lassen J. E, Dahler-Eriksen B. S. et at. Evaluation of a simple dosage scheme for transition from phenprocoumon to warfarin in oral anticoagulation II Thromb. Res. — 2000. — Vol 98. — P. 157-163.*
4. *van Geest-Daalderop J. H., Pequeriaux N. C., van den Besselaar A.M. Variability of INR in patients on stable longterm treatment with phenprocoumon and acenocoumarol and implications for analytical quality requirements // Thromb. Haemost. — 2009. — Vol 102. — P. 588-592.*
5. *Stehle S., KirchheinerJ., Lazar A. et al. Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization // Clin. Pharmacokinet — 2008. — Vol 47. — P. 565-594.*
6. *Perez-Andreu V., Roldan V., Anton A. I. et al Pharmacogenetic relevance of CYP4F2 V433M polymorphism on acenocoumarol therapy // Blood. — 2009. — Vol. 113. — P. 4977-4979.*
7. *Klein T.E., Altman R.B., Eriksson N. et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data // N. Engl J. Med. — 2009. — Vol. 360. — P. 753-764.*
8. *Agnelli G., Eriksson B.I., Cohen* A. *T. et al. Safety assessment of new antithrombotic agents: lessons from the EXTEND study on ximelagatran // Thromb. Res. — 2009, — Vol. 123. — P. 488-497.*
9. *Slangier J. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate // Clin. Pharmacokinet — 2008. — Vol. 47. — P. 285-295.*
10. *Stangier J., Stahle H.,t Rathgen K. et al Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitory are not affected by moderate hepatic impairment // Clin. Pharmacol — 2008. — Vol. 48.- P. 1411-1419.*
11. *Eriksson B.I., Dahl O.E., Rosencher N. et al. Dabigatran etexilate versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total hip replacement: a randemised, double-blind, non-inferiority trial //Lancet. — 2007. — Vol. 370. — P. 949-956.*
12. *Eriksson B. I., Dahl O. E, Rosencher N. et al. Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial // Thromb. Haemost - 2007. — Vol. 5. — P. 2178-2185.*
13. Ginsberg *J. S., Davidson B. L., Comp P.C. et al. Oral thrombin inhibitor dabigatran etexilate* vs *North American enoxaparin regimen for prevention of venous thromboembolism after knee arthroplasty surgery // Arthroplasty. — 2009. — Vol. 24. — P. 1-9.*
14. *Connolly S.J., Ezekowitz M.D., Yusuf S. et al. Dabigatran versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation // N. Engl J; Med. — 2009. — Vol. 361. — P. 1139-1151*
15. *Diener H-C., Connolly S$_0$ Ezekowitz M. D. et al. Dabigatran Compared to Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation and Prior TIA or Stroke // RE-LY American Stroke Association International Stroke Conference 2010. — Late Braking Science 2010. — Abstract 195.*
16. *Healey J. S., Eikelboom J., Wallentin L. et al. Effect of age and renal function on the risks of stroke and major bleeding with dabigatran compared to warfarin: An analysis from the RE-LY study //Am. Coll. Cardiol — 2010. — Vol. 55. — P. 1078-1120.*
17. *Koti M. J., Parekh A., Connolly S.J. et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation — An analysis of patients undergoing cardioversion // Am. Coll. Cardiol – 2010. — Vol 55. – P 1078-1124.*
18. *Oldgren]., Alings* M., *Darius H. et al. Dabigatran versus warfarin in atrial fibrillation patients with low, moderate and high CHADS2 score: A RE-LY subgroup analysis // Am. Coll. Cardiol. — 2010. — Vol 55. — P. 903-904.*
19. *Stangier J., Clemens A. Pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitor // Clin. Appl. Thromb. Hemost. — 2009 [epub. ahead of print].*
20. *Schulman S., Kearon* C., *Kakkar A. K. et al. Dabigatran versus Warfarin in the Treatment of Acute Venous Thromboembolism //N. Engl J. Med. — 2009. — Vol. 361. — P. 2342-2352.*
21. *Oldgren J., Budaj A., Granger C. et al. Randomised dabigatran etexilate dose finding study in patients with acute coronary syndromes post index event with additional risk factors for cardiovascular complications also receiving aspirin and cbpidogrel (RE-DEEM) //Circulation. — 2009. — Vol. 120. — P. 2160-2161. — Abstract 165.*

ПЕРСОНАЛИЗАЦИЯ АНТИТРОМБОЦИТАРНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КЛОПИДОГРЕЛЮ

УДК 616-005.6: 615.273.52

Н. Г. Хорев[1,2,3], А. П. Момот[1], Д. А. Залозный[1], Я. Н. Шойхет[2]

[1] **- Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**

[2] **- Кафедра факультетской хирургии им. проф. И. И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**

[3] **- НУЗ «Отделенческая клиническая больница на ст. Барнаул ОАО «РЖД»**

В ряде случаев у пациентов с ишемической болезнью сердца, к которым применяется двойная антиагрегантная терапия, развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий ассоциировано с индивидуальной генетической чувствительностью к антиагреганту клопидогрелю. Результаты исследований показывают возможность применения генотипирования и выявления полиморфизма генов, особенно гена фермента CYP2C19 с потерей функции аллелей, для индивидуализации и оптимизации лечения клопидогрелем.

Определены факторы, не позволяющие рекомендовать генотипирование для рутинного использования в настоящее время: 1) нет перспективных исследований, демонстрирующих клиническую эффективность персонализации антитромбоцитарной терапии на основе генотипирования; 2) на полиморфизм CYP2C19 приходится около 12% резистентности к клопидогрелю; 3) прогностическая ценность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на основе определения полиморфизма гена CYP2C19 с потерей функции аллелей у пациентов с острым коронарным синдромом, подвергающихся чрескожным коронарным вмешательствам (ЧКВ), приблизительно 12-20%; 4) неизвестно, способен ли полиморфизм гена влиять на клинический результат у конкретного пациента.

Ключевые слова: антиагреганты, острый коронарный синдром, полиморфизм генов, тромбозы

In some cases, the development of adverse cardiovascular events in patients with coronary heart disease receiving dual antiplatelet therapy, reveals an individual genetic susceptibility to antiplatelet agent clopidogrel. The results show the possibility of genotyping and gene polymorphism detection, especially with the gene for the enzyme CYP2C19 with loss of alleles function for the individualization and optimization of treatment with clopidogrel.

The factors that does not allow to recommend genotyping for routine use at this time: 1) no prospective studies demonstrating the clinical effectiveness of personalized antiplatelet therapy based on genotyping; 2) the polymorphism of CYP2C19 is about 12% of resistance to clopidogrel; 3) the predictive value of adverse cardiovascular cardiovascular events, based on the identification of gene polymorphism CYP2C19 with loss of alleles function in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention (PCI), approximately 12-20%; 4) is not known whether gene polymorphisms influence the clinical outcome of a particular patient.

Keywords: antiplatelet agents, acute coronary syndrome, gene polymorphism, thrombosis

Введение

Двойная антитромбоцитарная терапия (ДАТ), включающая в себя сочетанное использование аспирина и клопидогреля, является стандартом в лечении больных с острым коронарным синдромом (ОКС), нестабильной стенокардией (НС), инфарктом миокарда (ИМ) с подъемом ST-сегмента (ИМпST), а также для пациентов, направленных на ЧКВ и имплантацию интракоронарного стента [1-3]. ДАТ продемонстрировала ощутимые клинические эффекты за счет значительного снижения риска нежелательных клинических событий: ИМ - на 25% и смерти от ИМ - на 20% [4]. Кроме того, ДАТ позволила эффективно уменьшить риск ранних и поздних тромботических осложнений у пациентов, подвергнутых ЧКВ [5], операциям на периферических сосудах и интервенции на артериях нижних конечностей [6].

Несмотря на использование ДАТ, частота неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (ССС) продолжает оставаться достаточно высокой. Смерть от ИМ, инсульта или тромбоза стента составляет более 10% [4; 7-10]. Выяснилось, что эти ССС связаны с резистентностью к клопидогрелю [4; 11].

Основываясь на анализе агрегационной функции тромбоцитов, около 20-30% больных, получающих клопидогрель, были определены как резистентные к лечению, что увеличивает риск повторных ССС, особенно у пациентов, перенесших ЧКВ [12-15].

Причины резистентности к клопидогрелю являются многофакторными. Значение имеют недостаточная доза препарата, межлекарственное взаимодействие, сопутствующие заболевания. Наибольшее значение придается полиморфизму генов больного, которые определяют кишечную абсорбцию препарата, фармакодинамику и метаболическую активацию препарата в печени [5; 15].

Фармакологические свойства клопидогреля

Клопидогрель ингибирует АДФ-рецепторы тромбоцитов и является пролекарством [16]. Метаболизм препарата происходит в печени в два этапа, при которых происходит биотрансформация пролекарства ферментами ряда цитохрома Р-450 (CYP) в активный метаболит, который в свою очередь ингибирует тромбоциты путем необратимой блокады P2Y12-рецепторов [17]. После всасывания в кишечнике подавляющая часть препарата (85%) из пролекарства метаболизируется и инактивируется эстеразами в неактивное производное карбоновой кислоты, и только оставшиеся 15% клопидогреля трансформируются в промежуточный метаболит - 2-оксо-клопидогрель [18]. 2-оксо-клопидогрель далее гидролизуется в нестабильную форму активных тиоловых производных R-130964, которые ингибируют агрегацию тромбоцитов через необратимое блокирование P2Y12-рецепторов на поверхности тромбоцитов [15].

Активный метаболит клопидогреля образуется в печени [12]. Первый этап метаболизма катализируется тремя изоферментами (CYP1A2, CYP2C19 и CYP2B6) и заключается в трансформации клопидогреля в 2-оксо-клопидогрель. Во время второго этапа под влиянием четырех изоферментов (CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4) образуется активный метаболит [19]. Изофермент CYP2C19 участвует в обоих этапах метаболизма и, по некоторым оценкам, способствует превращению 45% клопидогреля в 2-оксо-клопидогрель и 21% 2-оксо-клопидогреля в активный метаболит [19]. Поэтому генотип CYP2C19 представляется основным фактором изменчивости реакции на клопидогрель и, возможно, влияет на клинический исход, особенно у пациентов с ЧКВ [20].

Полиморфизм генов как фактор резистентности к клопидогрелю

В настоящее время нет четкого и точного определения термина «резистентность» для клопидогреля [8; 10]. Исходя из различных представлений термин «резистентность», с одной стороны, можно определить как появление клинических ССС у больного, получающего ДАТ [5]. С другой стороны, возможна лабораторная трактовка термина, основанная на изменении агрегации тромбоцитов при использовании клопидогреля [21]. Хотя две эти формы «резистентности» не всегда совпадают друг с другом [5].

Полиморфизм в генах, кодирующих изоферменты CYP, ферменты, принимающие участие в обмене веществ, транспортных белков, белков, участвующих в переносе лекарств через биологические мембраны, и белков-мишеней для препаратов, действующих на рецепторы P2Y12-тромбоцитов, может оказать существенное влияние на чувствительность к клопидогрелю [22]. Фармакокинетика основного активного метаболита клопидогреля и его клинический эффект отличаются у различных пациентов в соответствии с индивидуальными характеристиками CYP2C19. Аллель CYP2C19*1 отвечает за эффективный метаболизм, а аллель CYP 2C19*2, равно как и CYP2C19*3, - за сниженный за счет потери специфической функции данных аллелей. К прочим аллелям, обусловливающим снижение метаболизма, относятся CYP 2C19*4, *5, *6, *7 и *8, но они встречаются сравнительно реже [19-20].

Недавние исследования, проведенные в отношении полиморфизма гена изофермента CYP2C19, продемонстрировали связь между CYP2C19 с потерей функции аллелей с более высоким уровнем острого коронарного события (ОКС) [23]. Первое исследование, которое показало связь полиморфизма изофермента CYP2C19 с уменьшением реакции на клопидогрель, было проведено среди молодых, фенотипически здоровых мужчин-добровольцев [24].

Снижение функции аллелей изофермента CYP2C19, обнаруженное у 25-30% представителей кавказской популяции, сопутствует снижению концентрации в плазме крови активного метаболита клопидогреля на 30% по сравнению с наблюдениями при отсутствии полиморфизма данного гена [25-27]. С последним было связано и слабое снижение агрегации и реактивности тромбоцитов (на 25%) в ответ на прием клопидогреля [24; 27-28]. Более того, носительство гена одного из ферментов CYP2C19 с потерей функции аллелей или двух из CYP2C19*2 (*3 *4 или*5) было ассоциировано со значительно более частыми событиями нежелательного ОКС, чем носителей без них (21,5% против 13,3%) [15; 25; 26; 29].

Таким образом, CYP2C19 представляется наиболее частым (95%) мутантным аллелем [27; 30] и основным фактором, определяющим среди его носителей реактивность тромбоцитов [31]. В исследовании PAPI (The Amish Pharmacogenomics of Anti-platelet Intervention) показано, что наличие CYP2C19 имеет 12%-ную вариацию ответа на клопидогрель. Кроме этого, установлено, что у 30% от общей численности населения с мутантным аллелем CYP2C19*2 была снижена чувствительность тромбоцитов к клопидогрелю и относительно повышен риск ОКС (20,9% против 10%) [31].

Возникновение тромбоза стента при использовании ДАТ чаще выявлено у носителей обеих CYP2C19*2 и CYP2C9*3 с потерей функции аллелей [32-34]. Согласно исследованию Harmsze et al. [32], даже однонуклеотидный полиморфизм из CYP2C9*3 приводил к двукратному повышению риска тромбоза стента. Следовательно, CYP2C9*3 является независимым фактором риска развития ССС из-за нарушения реактивности тромбоцитов [32].

У носителей аллеля CYP2B6 снижение функции тромбоцитов связано с уменьшением плазменной

концентрации активного метаболита клопидогреля (относительное снижение на 15,7%) и в меньшей степени - со снижением агрегации тромбоцитов в ответ на прием клопидогреля [27]. Аллели в CYP2C18, CYP2C19*3 и CYP2C8 связаны с уменьшением ответа на клопидогрель с высокой степенью статистической значимости [31; 35]. Тем не менее значимой корреляции между этими генетическими вариантами и возникновением тромбоза стента не установлено [32]. Другие ферменты CYP и их аллели либо не имели полиморфизма генов, как у CYP3A4, либо не были связаны с фармакокинетическим и фармакодинамическим ответом на клопидогрель (CYP3A5, CYP1A2, CYP2C19*4,*5,*6) [27; 28].

В отличие от вышеупомянутых генетических вариантов показано, что CYP2C19*17 увеличивает активность фермента в связи с повышенной скоростью транскрипции [36]. Следовательно, носители аллели CYP2C19*17 более чувствительны к клопидогрелю и имеют повышенный антиагрегантный ответ [28; 36]. Однако повышенная чувствительность к клопидогрелю приводит к избыточному антиагрегантному действию, что сопряжено с высоким риском кровотечения [37].

Работы, преследующие цель объяснить биологическую изменчивость антиагрегантного ответа на клопидогрель, не нашли связи с полиморфизмом генов рецепторов P2Y12 или рецепторов гликопротеина IIb/IIIa [15]. Согласно опубликованным результатам, генотипирование на соответствующие генные полиморфизмы может быть эффективным методом индивидуализации и оптимизации лечения клопидогрелем [38; 39].

Резистентность к клопидогрелю в различных этнических группах

Одной из причин изменчивости ответа на клопидогрель является этническая принадлежность. Полиморфизм CYP2C19 имеет широкую вариабельность межэтнических групп: в пределах 20-30% среди кавказской расы, до 30-45% среди афроамериканцев и примерно в 50-65% - в странах Восточной Азии [5; 27]. Аллель CYP2C19*2, равно как и аллель CYP2C19*3, обусловливает снижение функции у 85% аллелей европеоидной расы и у 99% - у монголоидной. Тем не менее CYP2C19*2 описывается как наиболее частый дефектный аллель у 75-85% белого населения Восточной Азии. В целом межэтнические различия влияют на снижение фармакокинетических и фармакодинамических ответов на клопидогрель приблизительно на 25-30% [27].

Дозозависимая чувствительность к клопидогрелю

Несмотря на то что проведенные клинические исследования показали связь между низкой дозировкой клопидогреля и отсутствием ответа на него при нежелательных ССС, большинство из этих исследований имеют ограничения по изменению дозы препарата [40]. Последние рандомизированные клинические испытания показали, что существует дозозависимая реакция на клопидогрель [42-42].

Показано, что носители CYP2C19*2 и *4 аллелей имеют значимое снижение агрегации тромбоцитов только после 600 мг «нагрузочной» дозы клопидогреля, а также отреагировали на схемы лечения с более высокими «нагрузочными» и поддерживающими дозами [22]. Появление нежелательных ССС было также значительно ниже при назначении до трех дополнительных 600 мг «нагрузочных» доз клопидогреля в сравнении с контрольной группой, в которой доза клопидогреля была ниже [43]. Кроме того, используя до трех дополнительных 600 мг «нагрузочных» доз клопидогреля, можно у 88% носителей CYP2C19*2 добиться более высоких показателей антиагрегантного эффекта [42].

Результаты были аналогичными в отношении высоких поддерживающих доз клопидогреля (150 мг/сутки) в сравнении с обычными (75 мг/сутки) [9]. Отчеты CURRENT-OASIS, включающие семь исследований с опытом лечения 25 086 пациентов, не выявили значительных дозозависимых событий в отношении смертей от ИМ или инсульта (4,2% против 4,4%, p=0,61), но выявили значительное снижение числа эпизодов тромбоза стента (1,6% против 2,3%, p=0,001) [44].

Таким образом, увеличение дозировки клопидогреля у носителей полиморфного гена с устойчивостью тромбоцитов к клопидогрелю может увеличить антиагрегантное действие препарата и снизить риск неблагоприятных ССС у некоторых категорий пациентов [38; 43].

Нарушения всасывания клопидогреля в желудочно- кишечном тракте

Полиморфизм генов (например, ABCB1), регулирующих процесс всасывания клопидогреля в желудочно-кишечном тракте, также может иметь влияние на степень ответа на препарат [7; 45]. Результаты французского реестра больных с НМпST или без подъема ST, включающего 2208 пациентов, показали, что носители двух мутантных аллелей ABCB1 имеют более высокий уровень нежелательных ССС (15,5% против 10,7%). Более того, наличие любых двух генов CYP2C19 с потерей функции аллелей (*2, *3, *4 или *5) и одного или двух мутантных аллелей ABCB1 связано с высоким риском смерти от ИМ или инсульта [15]. В исследовании PLATO у 13 408 пациентов возникновение ССС было постоянно ниже у носителей CYP2C19 по сравнению с теми пациентами, у которых выявлялись дополнительные мутантные аллели ABCB1 (11,2% против 11,9%) [46].

Данные о полиморфизме ABCB1 как независимом факторе существенно различаются. В частности, некоторые исследования показали, что наличие мутантной аллели ABCB1 не оказывает существенного влияния на антиагрегантное действие клопидогреля [15; 47]. Между тем данные работы Mega et al., которые оценивали влияние полиморфизма ABCB1 как отдельно, так и в комбинации с CYP2C19 мутантной аллелью, кажутся более реалистичным. Результаты показали, что генотипы ABCB1 и CYP2C19 являются независимыми предикторами и носители этих мутантных аллелей подвергаются повышенному риску смерти от ИМ или инсульта [48]. Поэтому определение генотипов CYP2C19 и ABCB1 позволяет совершенствовать прогнозирование степени действия клопидогреля на агрегацию тромбоцитов [49].

Альтернативные антиагреганты при полиморфизме генов

В настоящее время изучены новые антагонисты

рецепторов АДФ, такие как прасугрель («Эфиент») и тикагрелор («Брилинта»). Оба препарата продемонстрировали лучшие клинические результаты по сравнению с клопидогрелем [50; 51]. В частности, основным преимуществом этих препаратов является слабое влияние генетических вариаций на их антиагрегантное действие [52].

Как и клопидогрель, прасугрель превращается в активный метаболит ферментами цитохрома Р450 [53]. В качестве первого шага данное пролекарство гидролизуется карбоксилэстеразой в промежуточный метаболит, который затем катализируется в активный метаболит с участием пяти различных изоферментов CYP [53]. Второй этап является окислительным и выполняется в присутствии изоферментов CYP3A4/5 и CYP2B6 с незначительным влиянием CYP2C19 и CYP2C9. Важно, что эти изоферменты способны компенсировать друг друга [54]. Как следствие, генетический полиморфизм одного фермента CYP не влияет на генерацию активного метаболита прасугреля [54].

Эти гипотезы были подтверждены исследованиями Varenhorst et al., согласно которым полиморфизм CYP2C19 с потерей функции аллелей приводит к снижению концентрации активного метаболита клопидогреля и соответствующему слабому снижению степени агрегации тромбоцитов. В то же время не было выявлено такого воздействия на активные метаболиты прасугреля и связанного с ним более слабого снижения агрегации тромбоцитов [54]. Более того, у носителей CYP2C19 с потерей функции аллели, получавших прасугрель, не выявлено повышения риска развития ИМ, тромбоза стента или других ССС [18; 20].

В отличие от клопидогреля и прасугреля, которые необратимо связывают на поверхности тромбоцитов рецепторы P2Y12, тикагрелор является селективным и обратимым антагонистом P2Y12 рецепторов, не требующим метаболической активации [55]. Различные исследования показали, что применение тикагрелора вызывает снижение агрегации тромбоцитов по сравнению с клопидогрелем раньше как в случае нормального ответа на клопидогрель, так и при наличии резистентности к нему [56]. Эти эффекты могут объяснить снижение частоты ССС у пациентов, получавших тикагрелор, по сравнению с клопидогрелем [50]. Следовательно, лечение тикагрелором более эффективно, чем лечение клопидогрелем, и снижает частоту нежелательных ССС, а также не зависит от полиморфизма CYP2C19 и ABCB1 [57].

Заключение

Большинство исследований показало низкую клиническую эффективность терапии клопидогрелем за счет снижения его метаболизма, обусловленного наличием полиморфизма гена CYP2C19. Необходимость учета индивидуальной чувствительности к нему дискутируется, учитывая важность такой чувствительности при имплантации внутрикоронарных стентов.

Однако клиническая необходимость генетического типирования по-прежнему остается неясной [58]. В настоящее время нет перспективных исследований, которые продемонстрировали бы клинические преимущества персонализированной антитромбоцитарной терапии на основе генотипирования. Более того, имеющиеся в продаже генетические тесты, которые могут определить варианты генотипа CYP2C19, обычно экономически невыгодны. Кроме того, около 12% случаев резистентности тромбоцитов к клопидогрелю связано с полиморфизмом генов CYP2C19 [31], и положительная прогностическая ценность полиморфизма CYP2C19 для ССС у пациентов с ОКС, подвергнутых ЧКВ, составляет примерно 12-20% [20; 31]. Кроме того, известно, что такие демографические и клинические факторы, как возраст, индекс массы тела и особенно сахарный диабет, также оказывают свое влияние на чувствительность к клопидогрелю [59-62].

Также нет никаких доказательств того, что тот или иной полиморфизм способен влиять на клинический исход у отдельных пациентов. Генетическое типирование в качестве рутинной меры определения пациентов с повышенным риском ССС и сопутствующий персонифицированный подбор антитромбоцитарной терапии активно изучаются сегодня, и можно ожидать новых интересных данных при интервенционных процедурах или реконструктивных операциях.

Список литературы

1. Yusuf, S. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation / S. Yusuf, F. Zhao, S. R. Mehta et al. // N. Engl. J. Med. - 2001. - Vol. 345. - P. 494-502.
2. Chen, Z. M. Addition of clopidogrel to aspirin in 45852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial / Z. M. Chen, L. X. Jiang, Y. P. Chen et al. // Lancet. - 2005. - Vol. 366. - P. 1607-1621.
3. Mehta, S. R. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study / S. R. Mehta, S. Yusuf, R. J. Peters et al. // Lancet. - 2001. -Vol. 358.-P. 527-533.
4. Kuliczkowski, W. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs; a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology / W. Kuliczkowski, A. Witkowski, L. Polonski et al. // Eur. Heart. J.-2009-Vol. 30.-P. 426-435.
5. Sharma, R. K. et al. Aspirin and clopidogrel hyporesponsiveness and nonresponsiveness in patients with coronary artery stenting / R. K. Sharma, H. K. Reddy, V. N. Singh et al. // Vase. Health Risk Manag. - 2009. - Vol. 5. - P. 965-972.
6. Belch, J. J. Results of the randomized, placebo-controlled clopidogrel and acetylsalicylic acid in bypass surgery for peripheral arterial disease (CASPAR) trial / J. J. Belch, J. Dormandy // J. Vase. Surg. - 2010. - Vol. 52. - №. 4. - P. 25-33.
7. Gurbel, P. A. Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes / P. A. Gurbel, M. J. Antonio, U. S. Tantry // Expert Opin. Drug. Metab. Toxicol. - 2009. - Vol. 5. - P. 989-1004.
8. Meadows, T. A. Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation / T. A. Meadows, D. L. Bhatt // Circ. Res. - 2007. - Vol. 100. - P. 1261-1275.
9. Tavassoli, N. High maintenance dosage of clopidogrel is associated with a reduced risk of stent thrombosis in clopidogrel-resistant patients / N. Tavassoli, S. Voisin, D. Carrie et al. //Am. J. Cardiovasc. Drugs. -2010. - Vol. 10. - P. 29-35.
10. Kumar, A. Platelet resistance to antiplatelet drugs / A. Kumar, J. Kao // Recent. Pat. Cardiovasc. Drug. Discov. - 2009. -Vol. 4.-P. 98-108.
11. Campo, G. Poor response to clopidogrel: current and future options for its management / G. Campo, L. Fileti, M. Valgimigli et al. // J. Thromb. Thrombolysis. - 2010. - Vol. 30. - P. 319-331.
12. Sibbing, D. Risk of combining PPIs with thienopyridines: fact or fiction? / D. Sibbing, A. Kastrati // Lancet. - 2009. - Vol. 374. - P. 952-953.
13. Sibbing, D. Clopidogrel response status assessed with multiplate point-of-care analysis and the incidence and timing of stent thrombosis over six months following coronary stenting / D. Sibbing, T. Morath, S. Braun et al. // Thromb. Haemost. - 2010. - Vol. 103. - P. 151-159.
14. Sofi, F. Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity. An updated meta-analysis / F. Sofi, R. Marcucci, A. M. Gori et al. // Thromb. Haemost. - 2010. - Vol. 103. - P. 841-848.
15. Simon, T. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events / T. Simon, C. Verstuyft, M. Mary-Krause et al. // N. Engl. J. Med. - 2009. - Vol. 360. - P. 363-375.

Осложнения имплантации устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии

Н. Г. Хорев[1,2], А. П. Момот[2], М. В. Боярков[3], С. В. Зайцев[3]

[1] **- ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава» (кафедра факультетской хирургии им. проф. И.И.Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС),**

[2] **- Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр Минздравсоцразвития РФ», Барнаул,**

[3] **- НУЗ ОКБ ст. Барнаул, г. Барнаул**

Ежегодное число имплантаций устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) в США на 1992 год составляло от 30 000 до 40 000 постоянных фильтров [1]. Частота размещения венозных кава-фильтров (ВКФ) увеличилась с 52 860 процедур в 1998 году до 104 114 процедур в 2005 году, что составило 80%-ный прирост. Логистические регрессионные модели показали, что скорость профилактических размещений ВКФ увеличивается значительно быстрее, чем имплантации, выполненные по поводу тромбоза глубоких вен или легочной эмболии (157% против 42%, $p<0,01$), с поправкой на возраст, пол и характеристики лечебного учреждения. Значительный рост использования профилактических ВКФ был отмечен у больных с ожирением и у пациентов с черепно-мозговой травмой [2]. В настоящее время на рынках Северной Америки и Европы представлено более 10 постоянных и временных (съемных, удаляемых) ВКФ (Titanium and Stainless Steel Greenfield Filters, Bird's Nest Filter, Simon Nitinol Filter, Vena Tech Filters, TrapEase Filter, Gunther Tulip and Recovery Nitinol Filters). Количество сообщений по использованию съемных фильтров постоянно увеличивается [5]. Однако большинство съемных фильтров являются относительно новыми и практически нет данных об их долгосрочной эффективности, если они используются в качестве постоянных фильтров. Процент извлекаемости съемных ВКФ составляет менее 50% [4], а летальность после повторных легочных эмболий после удаления временных ВКФ остается достаточно высокой [5].

Показатель успешности имплантации как постоянных, так и временных ВКФ включает ряд характеристик устройства, таких как проходимость фильтра и нижней полой вены, локализация, пенетрация, миграция, профильность и развитие рецидивной ТЭЛА. Для различных моделей в сумме эти показатели составляют от 6 до 18% и зависят от развития различных осложнений [6]. Ведущее значение в эффективности проведения эндоваскулярной профилактики ТЭЛА путем использования ВКФ является создание условий для минимизации тромбоза фильтра, тромбоза нижней полой вены и миграции фильтра. Анализ этих осложнений имплантации, представленный в последних работах, позволил определить показатель тромбоза различных моделей фильтра - 8,7% (табл. 1), миграции - 2,2% (табл. 2) и тромбоза нижней полой вены - 1,9% (табл. 3).

Цель исследования: Изучить наиболее тяжелые и часто встречающиеся осложнения имплантации различных устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии. Материал и методы: за период с 1990 по 2009 год в клинике имплантировано 248 кава-фильтров различных моделей. Показаниями для имплантации был факт установленной ТЭЛА при проведении тромболизиса или антикоагулянтного лечения и эмбологенный венозный тромбоз системы нижней полой вены. Подбор размера фильтра проводился в соответствии с поперечным диаметром НПВ. Имплантация выполнялась в инфраренальную позицию с предварительным контрастированием устий почечных

Таблица 1.

Сведения о тромбозе различных моделей кава-фильтров

Исследование	**Дизайн**	**Тип фильтра**	**Кол-во больных**	**Тромбоз**
Millward 2001 [7]	Ретроспективное, мультицентровое	Gunther Tulip	91	5
Asch 2002 [8]	Проспективное, не рандомизированное	Recovery nitinol filter (RNF)	32	7
Wicky 2003 [9]	Ретроспективное	Gunther Tulip	75	14
Terhaar 2004 [10]	Проспективное, не рандомизированное	Gunther Tulip	53	2
Imberti 2005 [11]	Проспективное, не рандомизированное	ALN	30	3
Oliva 2005 [12]	Проспективное, мультицентровое, не рандомизированное	OptEase	27	2
Hoppe 2006 [13]	Проспективное, мультицентровое не рандомизированное	Gunther Tulip	42	5
Meier 2006 [14].	Проспективное, не рандомизированное	OptEase	37	12
Keller 2007 [15]	Ретроспективное	Gunther Tulip	93	13
Keller 2007 [15]	Ретроспективное	OptEase	83	24
Mismetti 2007 [16]	Проспективное, не рандомизированное	ALN	220	4
Lobby 2007 [17]	Ретроспективное	Gunther Tulip	147	2
Kim 2008 [18]	Ретроспективное	OptEase, Gunther Tulip, Recovery, G2	427	26
Всего			1357 (100%)	119 (8,7%)

вен. Вся процедура имплантации удовлетворяла требованиям российского и международного протоколов [19,20].

Ежегодное число имплантаций устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) в США на 1992 год составляло от 30 000 до 40 000 постоянных фильтров [1]. Частота размещения ВКФ увеличилось с 52860 процедур в 1998 году до 104114 процедур в 2005 году, что составило 80% прирост. Логистические регрессионные модели показали, что скорость профилактических размещений ВКФ увеличивается значительно быстрее, чем имплантации, выполненные по поводу тромбоза глубоких вен или легочной эмболии (157% против 42%, p <0,01), с поправкой на возраст, пол и характеристики лечебного учреждения

Значительный рост использования профилактических ВКФ был отмечен у больных с ожирением и у пациентов с черепно-мозговой травмой [2]. В настоящее время на рынках Северной Америки и Европы представлено более 10 постоянных и временных (съемных, удаляемых) ВКФ (Titanium and Stainless Steel Greenfield Filters, Bird’s Nest Filter, Simon Nitinol Filter, Vena Tech Filters, TrapEase Filter, Gunther Tulip and Recovery Nitinol Filters). Количество сообщений по использованию съемных фильтров постоянно увеличивается [5]. Однако большинство съемных фильтров являются относительно новыми и практически нет данных об их долгосрочной эффективности, если они используются в качестве постоянных фильтров.

Таблица 2.

Сведения о миграции различных моделей кава-фильтров

Исследование	**Дизайн**	**Тип фильтра**	**Кол-во больных**	**Миграция**
Asch 2002 [8]		Recovery nitinol filter (RNF)	32	1
Wicky 2003 [9]	Ретроспективное	Gunther Tulip	75	2
Imberti 2005 [11]	Проспективное не рандомизированное	ALN	30	1
Hoppe 2006 [13]	Проспективное, мультицентро- вое не рандомизированное	Gunther Tulip	42	1
Meier 2006 [14]	Проспективное не рандомизированное	OptEase	37	1
Keller 2007 [15]	Ретроспективное	Gunther Tulip	93	1
Всего			309 (100%)	7 (2,2%)

Таблица 3.

Сведения о тромбозе нижней полой вены при установке различных моделей кава-фильтров

Исследование	**Дизайн**	**Тип фильтра**	**Кол-во имплантов**	**Тромбоз**
Millward 2001 [7]	Ретроспективное, мультицентровое	Gunther Tulip	91	2
Hoppe 2006 [13]	Проспективное, мультицентровое, не рандомизированное	Gunther Tulip	42	1
Keller 2007 [15]	Ретроспективное	Gunther Tulip	93	4
Keller 2007 [15]	Ретроспективное	OptEase	83	2
Kim 2008 [18]	Ретроспективное	OptEase, Gunther Tulip, Recovery, G2	427	2
Всего			736 (100%)	14 (1,9%)

Процент извлекаемости съемных ВКФ составляет менее 50% [4], а летальность после повторных легочных эмболий после удаления временных ВКФ остается достаточно высокой [5].

Показатель успешности имплантации как постоянных, так и временных ВКФ включает ряд характеристик устройства, таких как проходимость фильтра и нижней полой вены, локализация, пенетрация, миграция, профильность и развитие рецидивной ТЭЛА. Для различных моделей в сумме эти показатели составляют от 6 до 18% и зависят от развития различных осложнений [6]. Ведущее значение в эффективности проведения эндоваскулярной профилактики ТЭЛА путем использования ВКФ является создание условий для минимизации тромбоза фильтра, тромбоза нижней полой вены и миграции фильтра. Анализ этих осложнений имплантации, представленный в последних работах, позволил определить показатель тромбоза различных моделей фильтра - 8,7% (табл. 1), миграции - 2,2% (табл. 2) и тромбоза нижней полой вены - 1,9% (табл. 3).

Цель исследования: изучить наиболее тяжелые и часто встречающиеся осложнения имплантации различных устройств для профилактики тромбоэмболии легочной артерии.

Материал и методы: за период с 1990 по 2009 год в клинике имплантировано 248 кава-фильтров различных моделей (табл.4). Показаниями для имплантации был факт установленной ТЭЛА при проведении тромболизиса или антикоагулянтного лечения и эмбологенный венозный тромбоз системы нижней полой вены. Подбор размера фильтра проводился в соответствии с поперечным диаметром НПВ. Имплантация выполнялась в инфраренальную позицию с предварительным контрастированием устий почечных вен. Вся процедура имплантации удовлетворяла требованиям российского и международного протоколов [19,20].

Таблица 4.

Модели имплантированных кава-фильтров и их осложнения во время госпитального периода

Название фильтра	Кол-во	Тромбоз фильтра		Миграция		Тромбоз НПВ	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
РЭПТЭЛА	31	-	-		-	-	
КОМЕД «песочные часы»	8	-	-		-	-	
КОМЕД «зонтик» - временный	24	1	4,1	1	4,1	1	4,1
CORDIS «Trap Ease»	161	13	8,1	1	1,2	4	2,5
CORDIS «Opt Ease»	24	2	8,3	1	-	-	-
Всего	248	16	6,5	3	1,2	5	2,0

Выводы

1. Ближайшие осложнения имплантации кава-фильтра в виде тромбоза (эмболии в фильтр), миграции или тромбоза нижней полой вены встречаются соответственно в 6,5%, 1,2% и 2,0% случаев на все модели имплантируемых устройств.

2. При проксимальной миграции фильтра наблюдается высокая летальность (66,6%), зона миграции ограничивается правым предсердием, что затрудняет удаление фильтра.

Список литературы

1. Magnant JG, Walsh DB, Juravsky LI, Cronenwett JL. Current use of inferior vena cava filters. // J. Vasc. Surg., 1992.- V. 16. - P. 701-706.

2. Moore PS, Andrews JS, Craven TE, Davis RP, Corriere MA, Godshall CJ, Edwards MS, Hansen KJ. Trends in vena caval interruption. // Vasc. Surg. 2010. - Mar 19. [Epub ahead of print].

3. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Evaluation of retrievability of the Gunther Tulip vena cava filter. // Cardiovasc. Intervent Radiol., 2007. - V. 30. - P. 226-231.

4. Venous Thromboembolism: New Perspectives. Seminars in Vascular Surgery. - V. 18.- Issue 3, September 2005. - P. 158-165.

5. Yamagami T, Tanaka O, Yoshimatsu R, Miura H, Nishimura T. Venous thromboembolism after removal of retrievable inferior vena cava filters. // Cardiovasc. Intervent Radiol., 2010 Feb. - V. 33(1). - P. 74-79.

6. Vascular and endovascular surgery:a comprehensive review / edited by Wesley S. Moore. // 7th ed. Saunders, Philadelphia, 2006. - P. 972.

7. Millward S, Oliva V, Bell S et al.: Gunther tulip retrievable vena cava filter: results from the Registry of the Canadian Interventional Radiology Association. // J Vasc. Interv. Radiol., 2001. - V. 12.- P. 1053-1058.

8. Asch M. Initial experience in humans with a new retrievable inferior vena cava filter. // Radiology, 2002. - V. 225. - P. 835-844.

9. Wicky S, Doenz F, Meuwly J, Portier F, Schnyder P, Denys A. Clinical experience with retrievable gunther tulip vena cava filters. // J. Endovasc. Ther., 2003.- V. 10.- P. 994-1000.

ТРОМБОЛИТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

УДК 616.13

Н. Г. Хорев, Я. Н. Шойхет, А. П. Момот

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр», г. Барнаул

На основании современных согласительных документов в обзоре представлены современные рекомендации по использованию тромболитической терапии у больных с тромбоэмболией легочной артерии. На основании анализа литературы показано, что данная стратегия лечения необходима у гемодинамически нестабильных пациентов или у больных с признаками повреждения миокарда правого желудочка. Анализу подвергнуты технологии проведения лечения – системный тромболизис или эндоваскулярное лечение.

Ключевые слова: тромбоэмболия легочной артерии, лечение

On the basis of the modern consensus paper in the review the current recommendations for the use of thrombolytic therapy in patients with pulmonary embolism are represented. Based on the analysis of the literature it is shown that this treatment strategy is needed in hemodynamically **unstable patients or in patients with evidence of myocardial damage of the right ventricle. The treatment technology are subjected to the analysis - systemic thrombolysis or endovascular treatment.**

Keywords: pulmonary embolism, treatment

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) занимает третье место по частоте острых нарушений в системе кровообращения [1]. Ежегодно более 750 000 ТЭЛА происходит в шести основных странах Европы (Франция, Германия, Италия, Испания, Швеция, Великобритания) [2] и более 900 000 - в США [3]. Учитывая высокие распространенность, смертность и хронические осложнения, ТЭЛА ложится значительным бременем на системы здравоохранения во всем мире. Каждый год прямые расходы на диагностику и лечение ТЭЛА оцениваются более чем в 3,07 млрд.
евро в Европе [4] и достигают 15,5 млрд. долларов в США. [2]. Современной стандартной практикой лечения ТЭЛА является использование антикоагулянтов [5]. В то же время у ряда больных стратегия стандартного антикоагулянтного лечения не всегда оправдана по причине тяжести поражения и высокого риска формирования постэмболической легочной гипертензии. Растворение тромбов в легочных артериях может снизить риск летального исхода [6] и уменьшить проблему постэмболической легочной гипертензии [7]. Однако использование тромболитиков сопровождается побочными эффектами, наиболее тяжелыми из которых являются кровотечения. Поэтому необходимы рекомендации по показаниям к использованию тромболитиков с учетом безопасности их применения.

Показания, технология и исходы тромболитической терапии связаны с тяжестью ТЭЛА. Этот вопрос регламентируется рядом согласительных документов [8-12], последний из которых представлен Международным союзом ангиологов [11]. Основные клинические признаки ТЭЛА обобщены в шкалах Geneva [13] и Wells [14]. В них интегрирована симптоматика заболевания с учетом суммы балльной значимости клинических признаков.

Инструментальные и лабораторные методы диагностики и главное определение тяжести (стратификации риска) ТЭЛА включают ряд критериев. Ведущее значение для визуализации тромботического процесса придается компьютерной томографии- ангиографии, которая позволяет выявить состояние правых отделов сердца [15], что является главным стратификационным признаком риска ТЭЛА. Многосрезовая спиральная КТ-ангиография (МСКТ-ангиография) как более новая технология позволяет выявлять сегментарные и даже субсегментарные тромбы [16].

Традиционная ангиопульмонография была стандартной практикой с конца 1960-х годов. В последующем Miller в Европе [17] и Walsh в Соединенных Штатах [18] использовали изображения для количественной оценки степени обструкции. Тем не менее с развитием технологии МСКТ-ангиографии прямая легочная ангиография с введением контрастного вещества в легочные артерии теперь редко исполняется как изолированная диагностическая процедура [8; 9; 11; 12].

Необходимость использования тромболитиков с учетом стратификации риска при ТЭЛА основывается на изучении инструментальных и лабораторных маркеров дисфункции и повреждения миокарда правого желудочка. Эхокардиографические признаки дисфункции правого желудочка выявляются лишь у 25% больных [19]. Предпочтительнее для решения этой задачи использование МСКТ-ангиографии, которая позволяет диагностировать дисфункцию почти у всех пациентов [20]. Лабораторным признаком дисфункции является повышение концентрации мозгового натрийуретического пептида (brainnatriureticpeptide - BNP), который отражает степень растяжения миокарда правого желудочка и тяжесть гемодинамического повреждения пациентов при ТЭЛА [21]. Более значимым для клинического прогноза и решения вопроса о необходимости назначения тромболитических препаратов является определение повреждения миокарда правого желудочка. Для диагностики этого состояния

используется тест на выявление повышения концентрации тропонина. Недавно проведенный мета-анализ подтвердил, что повышенный уровень тропонина коррелирует с повышенной смертностью даже в подгруппе гемодинамически стабильных пациентов [22].

Классификационные критерии ТЭЛА позволяют выявить пациентов для антикоагулянтной либо тромболитической терапии, рассмотреть варианты тромболизиса и даже использовать прямое хирургическое удаление тромба из легочной артерии. В связи с этим существует два подхода, которые сформулированы в согласительных документах (консенсусах). Европейское общество кардиологов (ESC) использует понятие риска ТЭЛА, который основан на прогнозе выживаемости пациента (рисунок 1). Американская ассоциация сердца (AHA) в основе оценки тяжести повреждения использует клинические оценки с соответствующей терминологией: ТЭЛА массивная, субмассивная и низкого риска (рисунок 2). Промежуточное положение занимает классификация Национального института здравоохранения (NICE, Великобритания), которая используется в медицинских учреждениях стран Британского Содружества (рисунок 3). Следует отметить, что во всех классификациях в основу положен не объем тромботического поражения артериального русла легких, а состояние больного, которое в первую очередь определяется функциональными возможностями правых отделов сердца.



Рисунок 1. Классификационные критерии ТЭЛА Европейского общества кардиологов [8]



Рисунок 2. Классификационные критерии ТЭЛА Американской ассоциации сердца [9]

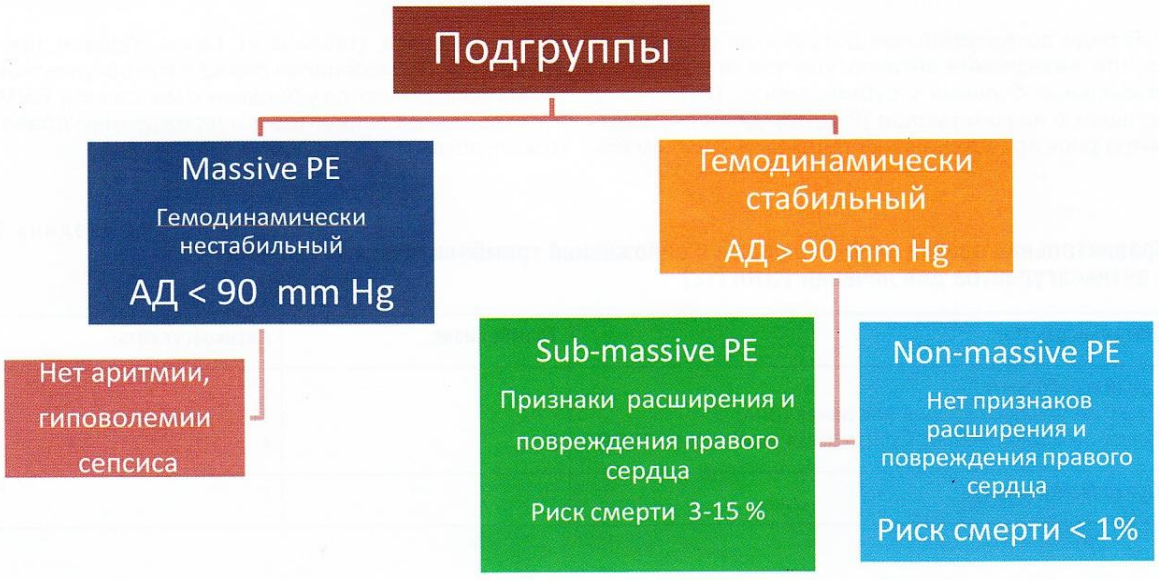


Рисунок 3. Классификационные критерии ТЭЛА Национального института здравоохранения (NICE), Великобритания [12]

Значительных успехов в лечении ТЭЛА удалось достигнуть благодаря применению не только антикоагулянтов, но и тромболитических препаратов. Впервые тромболизис был описан в 1933 г. доктором Уильям Тиллет, который по чистой случайности обнаружил, что плазма, содержащая стрептококки, не образует сгусток. Им была зафиксирована фибринолитическая активность (β-hemolyticStreptococci и заложена основа тромболизиса [23]. Позже, в 1945 г., Christensen и MacLeod придумали термин «стрептокиназа» [24]. Впервые стрептокиназу применил Fletcher в 1958 г. у больного острым инфарктом миокарда [25]. Появление фибринспецифических тромболитиков второго (rt-PA: alteplase) и третьего (Reteplase: r -PA и Tenecteplase:TNK-tPA) поколений привело к улучшению результатов лечения не только инфаркта миокарда, но и ТЭЛА.

Решение для использования тромболитического агента должно основываться на индивидуальной оценке баланса пользы по сравнению с риском. Потенциал преимущества состоит в более быстром разрешении симптомов. Применение тромболизиса приводит к уменьшению одышки, боли в груди, к стабилизации дыхательной и сердечно-сосудистой системы без использования искусственной вентиляции легких или вазопрессорной поддержки. При этом уменьшаются дисфункция и повреждение правого желудочка, профилактируется рецидив ТЭЛА. Потенциальный вред включает в себя возникновение смертельных кровотечений, в том числе внутримозгового кровоизлияния и увеличение риска незначительного кровотечения. В результате растут сроки госпитализации, возникает необходимость использования препаратов крови.

Существуют разные точки зрения на применение системного тромболизиса у больных с ТЭЛА. Расширенные показания для метода используются в Европе [11]. В США применение системного тромболизиса более консервативно [10]. Это подтверждается схемами сравнения подходов к применению системной тромболитической терапии, которые приведены в таблице 1.

Таблица 1

Показания для системной тромболитической терапии

Критерии	**Согласительный документ**	
	ACCP, 2012 [10] (США)	**IUA, 2013 [11] (Европа)**
Рекомендовано	- Массивная ТЭЛА (гипотония < 90 мм) без риска кровотечения - У отдельных пациентов с субмассивной ТЭЛА и низким риском кровотечения	Субмассивная ТЭЛА без риска кровотечения
Не рекомендовано	Для большинства больных без гипотонии (ТЭЛАсубмассивная и низкого риска)	ТЭЛА низкого риска
Дополнительные условия	- Продолжительность короткого курса (2 часа) предпочтительнее длинного (24 часа) - Предпочтительно введение препарата через периферический катетер, а не в легочную артерию	- После проведенного тромболизиса необходимо использование регламента интенсивности и длительности антикоагулянтной терапии - При массивной ТЭЛА показаны катетерные вмешательства на легочной артерии или хирургическая эмболэктомия

В ряде согласительных документов указывается, что назначение антикоагулянтов оправдано у стабильных больных с субмассивной ТЭЛА или у больных с низким риском [8, 9, 12]. Для этих пациентов риск кровотечения сопоставим с риском летального исхода (таблица 2). Таким образом, преимущества тромболизиса перед антикоагулянтной терапией выявляются у больных с массивной ТЭЛА и у стабильных пациентов с повреждением правого желудочка [12].

Таблица 2

Сравнительная оценка эффективности и осложнений тромболитической терапии и антикоагулянтов для лечения ТЭЛА [12]

Летальность (%)	**Тромболизис**	**Антикоагулянты**
Среди всех больных	4	7
Среди нестабильных больных (массивная ТЭЛА)	7	14
Среди стабильных больных (субмассивная, низкого риска ТЭЛА)	3	4
При кровотечениях (%)	10	7

Анализ абсолютных противопоказаний для системного тромболизиса выявил некоторые различия в США и Европе (таблица 3).

Тромболитические препараты и режимы их использования при ТЭЛА (таблица 4) утверждены Европейским обществом кардиологов [8]. Подобный регламент и лекарства для тромболизиса рекомендованы и в Российской Федерации [26].

Таблица 3

Абсолютные противопоказания для системной тромболитической терапии у больных с ТЭЛА

Критерии	**Согласительный документ**	
	Американская ассоциация сердца - АНА [9]	**Европейское общество кардиологов - ESC [8]**
Схожесть	- Геморрагический инсульт - Опухоль мозга - Черепно-мозговая травма - Травма лицевого черепа и длинных трубчатых костей - Продолжающееся кровотечение	
Различие	- Ишемический инсульт до 3 месяцев - Геморрагический диатез - Диссекция аорты	- Ишемический инсульт до 6 месяцев - Эпизод желудочно-кишечного кровотечения давностью менее 1 месяца

Таблица 4

Лекарственные вещества, используемые для тромболитической терапии

Препарат	**Схема**
Стрептокиназа	250 000 МЕ в качестве нагрузочной дозы в течение 30 мин., после чего 100 000 МЕ/ч в течение 12-24 ч.
Урокиназа	4400 МЕ/кг нагрузочная доза в течение 10 мин, после чего 4400 МЕ/кг/ч в течение 12-24 ч.
rt-PA—Альтеплаза (США-Активаза, Европа-Актилизе)	100 мг в течение 2 ч. или 0,6 мг/кг в течение 15 мин. (максимальная доза 50 мг)

D. Perlroth et al. провели фармакоэкономический анализ, в котором изучены общие затраты на лечение ТЭЛА [27]. Сравнивались две схемы лечения субмассивной ТЭЛА: первая - тромболитическая терапия (альтеплаза) и стандартное лечение гепарином; вторая - изолированное стандартное лечение гепарином. В первом случае при применении альтеплазы общая стоимость затрат составила 43 900 долларов, во втором - 43 300 долларов. Следовательно, у стабильных больных с ТЭЛА применение тромболитической терапии экономически не ущербно. Хотя у больных, получающих гепарин, риск клинического ухудшения был в 3 раза выше.

Преимущества фибринселективных тромболитических препаратов 2-й и 3-й генераций очевидны. Если эффективность стрептокиназы и урокиназы сопоставимы при инфузии на протяжении 12-24 часов [28], то инфузия rt-PA 100 мг/2 часа быстрее приводила к реканализации и восстановлению гемодинамики, чем инфузия урокиназы в течение 12 или 24 часов со скоростью 4400 МЕ/кг/ч [29]. В 1997 г. Meneveau Netal [30] показали, что инфузия rt-PA 100 мг/2 часа быстрее приводила к реканализации и восстановлению гемодинамики, чем инфузия стрептокиназы в течение 12 часов со скоростью 100000 ед/ч. В 2005 г. T. Capstick и M. T. Henry опубликовали мета-анализ, в котором сопоставлено 15 исследований по изучению эффективности альтеплазы и 12 исследований стрептокиназы у больных ТЭЛА [31]. В общей сложности 406 пациентов получали стандартные инфузии (100 мг) альтеплазы, 323 больных - болюс-дозы (50 мг) альтеплазы и 296 пациентов - инфузии стрептокиназы. Было показано статистически значимое снижение общей летальности и летальности, связанной с ТЭЛА, при использовании полной дозы альтеплазы по сравнению с болюсом и стрептокиназой. Статистически значимых различий в частоте фатальных кровотечений и рецидивов ТЭЛА в изучаемых группах не обнаружено. Авторы делают вывод о бесспорном преимуществе полной дозы альтеплазы перед стрептокиназой у больных ТЭЛА.

Первое рандомизированное контролируемое исследование, в котором проводилось сравнение эффективности гепарина и тромболитической терапии, было спонсировано Национальным институтом здравоохранения (NIH) США [32; 33]. Выявлено, что при использовании тромболитиков наблюдалось более быстрое и полное восстановление просвета легочной артерии. При этом возрастал риск кровотечений, однако не обнаружено снижения смертности. Хотя спустя 1 год пациенты после тромболизиса имели лучшую легочную перфузию [34]. Через 7 лет у этих больных проведена катетеризация правых отделов сердца. При этом продемон-стрировано снижение давления и периферического сопротивления в легочной артерии [35]. Однако эти исследования, в том числе после 7 лет, проведены лишь у выживших больных. Также у этих пациентов было меньше тромбозов глубоких вен и рецидивных ТЭЛА по причине имплантации кава-фильтра. Поэтому утверждение о преимуществе тромболитической терапии у больных, включенных в это исследование, недостаточно корректно.

Европейское рандомизированное исследование тромболитической терапии с гепарином по сравнению с применением только гепарина для субмассивной ТЭЛА продемонстрировало лучшие результаты в группе больных с тромболитической терапией, особенно у более тяжелых пациентов [36]. Этот Европейский трайл был сделан более корректно, поскольку в нем выделены больные массивной и субмассивной ТЭЛА. Естественно, наиболее значи-

мые клинические результаты получены при массивной ТЭЛА. Мета-анализ эффективности тромболизиса у больных с массивной ТЭЛА показал значимое снижение рецидива ТЭЛА или смерти до 9,4% в группе с тромболитической терапией по сравнению с 19,0% в группе, получавшей антикоагулянты [37].

По-прежнему наиболее спорной проблемой остается применение тромболитиков у больных промежуточного риска. До сих пор неясно, насколько показано проведение тромболизиса у гемодинамически стабильных пациентов с признаками дисфункции и повреждения миокарда. Поэтому в 2012 г. начато исследование PEITHO (NCT 00639743) по применению третьей генерации тромболитических препаратов - тенектеплазы (TNK-tPA) для лечения ТЭЛА. Целью данного испытания явилось изучение эффективности и безопасности тенектеплазы с гепарином по сравнению с плацебо с гепарином у данной категории пациентов с промежуточными факторами риска. Результаты работы опубликованы в 2014 г. [38]. Оказалось, что у пациентов с ТЭЛА промежуточного риска фибринолитическая терапия снижает летальность, но повышает риск кровотечений и инсультов (таблица 4). Исследование свидетельствует об уменьшении летальности от ТЭЛА более чем в 2 раза. В то же время отмечен 10-кратный рост числа геморрагических инсультов.

Таблица 5

Клинические результаты исследования PEITHO

Исходы	Тенектеплаза (%)	Плацебо (%)
Летальность	2,6	5,6
Кровотечения	6,3	1,2
Геморрагический инсульт	2,4	0,2

Отсутствие преимуществ тромболизиса с применением rt-PA у гемодинамически стабильных больных продемонстрировано в последнем мета-анализе LiuYetal [39]. Этот мета-анализ не выявил преимуществ тромболитической терапии по сравнению с гепарином для начального лечения гемодинамически стабильных пациентов, испытывающих острую легочную эмболию. Определенные выгоды тромболизиса могут быть получены лишь у больных с повреждением миокарда [39]. В другом мета-анализе Zhang Z,et al, проведенном на основе ограниченных данных, высказано предположение, что низкая доза rt-PA имеет эффективность, сходную со стандартной дозой, без увеличения риска кровотечений [40].

Таким образом, тромболитическая терапия с позиции «польза - вред» показана больным с массивной ТЭЛА или пациентам с субмассивной ТЭЛА и признаками повреждения правого желудочка. Преимущества тромболитиков перед гепарином возможны лишь у некоторых стабильных пациентов с ТЭЛА промежуточного риска.

Прямое механическое вмешательство (эндоваскулярное лечение) может быть спасением для пациентов с массивной или субмассивной ТЭЛА. Чрескожная катетерная техника представляется альтернативой системного тромболизиса, если есть противопоказания к системному лизису или невозможность хирургической эмболэктомии. Катетерные вмешательства, как и хирургическая эмболэктомия, могут спасти жизнь, если системный тромболизис провести не удалось [41].

Эндоваскулярная терапия ТЭЛА предусматривает сочетание различных технологических решений, направленных на восстановление проходимости артериального русла легких [42]. Комитет по оценке технологий общества интервенционных радиологов США [43] разделяет эндоваскулярные процедуры на катетернаправленный тромболизис и механическую тромбэктомию. В свою очередь, механическая тромбэктомия может быть проведена с применением различных принципов и устройств, таких как фрагментация [44], аспирация [45] и реолитическая тромбэктомия [46]. Одно из технических решений состоит в использовании ультразвукнаправленного катетерного тромболизиса [47].

Американская коллегия торакальных врачей (ACCP, 2012) [10] жестко регламентирует показания для катетернаправленного тромболизиса. Метод показан больным с гипотонией и наличием противопоказаний или у пациентов с неудачным системным тромболизисом. Важнейшим условием использования технологии является наличие ресурсов и опыта медицинского учреждения. Предпочтение отдается сочетанию использования механической тромбэктомии и тромболитических препаратов. Международный союз ангиологов (IUA, 2013) [11] с низким уровнем доказательности рекомендует расширить показания для интервенционных процедур. В этом документе рекомендуется использование интервенции для пациентов с субмассивной ТЭЛА с повышенным риском кровотечения при проведении системного тромболизиса.

Доказательства эффективности эндоваскулярного лечения ТЭЛА основаны на неконтролируемых одноцентровых исследованиях. Сравнительно недавно опубликованный мета-анализ KuoW Tetal, в котором проведено обобщение 29 ретроспективных и 6 проспективных исследований, подтверждает перспективность эндоваскулярного лечения [48]. В настоящее время в США и Европе проводятся два рандомизированных исследования (NCT01166997 и NCT01513759 соответственно), которые позволят определить эффективность и безопасность низких доз ультразву-кусиленного катетернаправленного тромболизиса у больных ТЭЛА промежуточного риска.

Таким образом, тромболитическая терапия - основной метод лечения больных с массивной ТЭЛА. В ряде случаев для этих пациентов возможно использование катетернаправленного тромболизиса или механической тромбэктомии. Для больных с субмассивной ТЭЛА промежуточного риска решение о необходимости тромболизиса должно приниматься индивидуально. Пациенты низкого риска нуждаются исключительно в антикоагулянтном лечении.

ДЕФИЦИНИЯ В УЧЕНИИ О СИНДРОМЕ ДИССЕМИНИРОВАННОГО ВНУТРИСОСУДИСТОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот

ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава»,
Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН, г. Барнаул, Россия

Каждый человек встречается с ДВС-синдромом как минимум дважды: когда рождается и когда умирает».

А. И. Воробьев

«Терапия ДВС-синдрома будет совершенствоваться, и в этом отношении сделаны лишь первые шаги, но пока нас радует, что основное направление в решении этой проблемы было выбрано правильно и что использование предложенных нами методов позволило значительно более эффективно лечить больных, находящихся на грани между жизнью и смертью».

З. С. Баркаган

При изучении и оценке любых многокомпонентных и взаимосвязанных систем подчас решающее значение имеет общее понимание и единство терминологии, прежде всего в познании процессов, происходящих в организме и описываемых исследователем.

Дефиниция - краткое логическое определение, устанавливающее существенные отличительные признаки предмета или значение понятий - его содержание и границы [1]. В приложении к гемостазу и его участникам дефиниция имеет в известной мере относительный характер, поскольку эта область медицинских знаний находится в ходе интенсивного развития, а многие термины и понятия, такие как «коагулопатия потребления», «гепарин», «непрямые антикоагулянты», «фибриноген Б», «фибринолизин» и др., глубоко историчны и не вполне отвечают современным представлениям о механизмах и средствах коррекции гемостатических реакций.

В настоящей работе предпринята попытка привести и обосновать ряд терминов и процессов, без общего понимания и применения которых трудно использовать на практике достижения современной медицины.

Естествоиспытатели и врачи древнего мира, в том числе Гиппократ, Платон, Аристотель, Гален и Гарвей, видели причину гемокоагуляции в охлаждении вытекающей крови и характер свертывания излившейся крови считали важным распознавательным признаком болезни - темная, тягучая, плохо свертывающаяся кровь признавалась болезненной (кровь с высокой вязкостью и снижением насыщения кислородом.- Прим. авт.); алая, жидкая, дающая плотный однородный сгусток, считалась признаком здоровья, а рыхлый сгусток с беловатым налетом сверху (*crusta fleogistica)* - доказательством горячки [2]. Эти наблюдения остались основными признаками внешних различий между видом крови здорового человека и патологически измененной в результате массивного микро- и макротромбообразования и сепсиса, нашедших объяснение и обоснование в ходе интенсивного развития биологии и медицины в последнем столетии.

Физиологическим состоянием крови в неповрежденных сосудах, как известно, является высокая текучесть, обусловленная равновесным взаимодействием сосудисто-тромбоцитарного (с участием лейкоцитов и эритроцитов), коагуляционного, антикоагулянтного и фибринолитического звеньев гемостаза. Функции каждой из этих систем, в свою очередь, в реальном времени уравновешиваются в контакте активаторов и ингибиторов упомянутых реакций (взаимодействия: тромбин-антитромбин III, тромбин-тромбомодулин-протеин С, тканевой активатор плазминогена - ингибитор активатора плазминогена I типа, плазмин - a_2-антиплазмин и др.) [3; 4; 5].

Патологическая тенденция к раннему формированию и рецидивированию тромбозов закономерно проявляет себя через активацию факторов свертывания крови, тромбоцитов и моноцитов, снижение антикоагулянтной защиты (антитромбином III, протеином С, ингибитором тканевого пути свертывания - TFPI и рядом других механизмов), что нашло отражение в отечественной классификации **гематогенных тромбофилий** [6]. Будет уместным привести высказывание К. Раби, согласно которому «... между моментом сосредоточения тромбогенных факторов и временем возникновения их способности вызывать внутрисосудистое свертывание крови развивается тромбофилическое состояние, которое в биологическом отношении выражается в формах **гиперкоагуляции** или их сочетании. Продолжительность этого состояния чрезвычайно изменчива и обратно пропорциональна интенсивности тромбогенного

процесса» [7]. Излишне говорить, что сдвиг в сторону гиперкоагуляции - естественная защитная реакция, происходящая всякий раз при повреждении сосуда. Она локализуется в месте ранения, является биологически опосредованной и преходящей во времени.

Соответственно, тенденция к гипокоагуляции и к потенциальной кровоточивости объясняется прямо противоположными причинами.

В благоприятных условиях организм располагает средствами восстановления нарушенного равновесия гемостатических реакций, эффективность которых зависит от интенсивности внешней или внутренней агрессии (инфекция, травма, гемолиз, кровопотеря, эмболия сосудов и др.), а также от площади поражения кровеносных сосудов и выраженности эндотелиоза. При сверхпороговых воздействиях этот процесс не поддается саморегуляции, и возникающий дисбаланс приводит к внутрисосудистому свертыванию крови различной степени выраженности и распространенности (при недостатке ограничительной функции физиологических антикоагулянтов), а затем к отсроченным по времени кровотечениям. Так, например, при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты происходит внутрисосудистое свертывание крови, сопровождающееся расходованием тромбоцитов, фибриногена и других участников гемостатических реакций, в результате чего возникают трудно поддающиеся терапии кровотечения.

Уникальным событием в понимании причин и механизмов внутрисосудистого свертывания крови и развития кровотечений явилось создание в середине прошлого века учения о **тромбогеморрагическом синдроме** (ТГС) [2], в полной мере доказавшего в последующем свое клиническое и общебиологическое значение [8; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19; 20 и др.]. Признание ТГС на 3-й Всесоюзной конференции по коагулологии (Львов, 1968) произошло в немалой степени и в связи с обобщением тромбогеморрагических явлений крупным канадским патофизиологом G.Selye (1964-1966, концепция Г. Селье) [21].

М. С. Мачабели обосновала стадийность течения ТГС, разбив его на четыре последовательные стадии:

1 - стадия гиперкоагулемии, 2 - стадия нарастающей коагулопатии потребления и фибринолитической активности, 3 - стадия дефибриногенации и фибринолиза и

4 - стадия восстановления утраченных функций [2.]

В соответствии с определением З. С. Баркагана, приведенным в БМЭ: «Тромбогеморрагический синдром представляет собой симптомокомплекс связанный с поступлением в кровоток эндогенных или экзогенных активаторов свертывания и агрегации тромбоцитов либо с массивной контактной активацией этих компонентов системы гемостаза. В результате в крови образуется множество микросгустков фибрина, которые тромбируют сосуды, что приводит к одновременному или последовательному возникновению множественных тромбозов и геморрагий»[10].

Одно из принципиальных положений учения М. С. Мачабели заключается в том, что тромбогеморрагический синдром может быть не только генерализованным (рассеянным, *синоним* - синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром), но и носить местный или локальный характер, что было исключено в приведенном выше энциклопедическом определении ТГС (1988), но использовано его автором и одним из соавторов настоящей публикации при интерпретации ряда полученных экспериментальных и клинических данных [22; 23].

С. Баркаган отмечал, что «... блокада микроциркуляции в пораженном органе оказалась, как и следовало предполагать, очень важной и пока недостаточно оцененной биологической реакцией, отграничивающей очаг поражения от диссеминации инфекта, распространения токсинов и продуктов распада тканей. Такими участками организм жертвует во имя спасения своей жизни. Вместе с тем стало очевидным, что такая локальная блокада микроциркуляции препятствует поступлению антибактериальных средств в очаги поражения, созданию в последних бактерицидной концентрации препарата и тем самым способствует формированию антибиотикоустойчивых форм микроорганизмов. Все эти закономерности выявились в комплексе работ двух клиник - нашей и клиники, руководимой проф. Я. Н. Шойхетом. Эти исследования, помимо их общебиологического значения, послужили основой для создания метода криоплазменно-антиферментной терапии абсцессов и гангрен легких, что позволило существенно улучшить результаты лечения больных» [24]. Можно видеть, что **локальный, ограниченный ТГС** затрагивает основы патогенеза большинства видов патологии человека, в их числе геморрагические инфаркты органов, развившиеся вследствие артериальной непроходимости (сосудов сердца, поджелудочной железы, сетчатки, простаты и др.), мезентериальный тромбоз, сопровождающийся кишечным кровотечением, ишемические размягчения ткани мозга с последующим геморрагическим пропитыванием, тромбоз легочной артерии с легочным кровохарканьем, тромбоз *a. renalis* с последующей гематурией и др. (рис.1).Последовательность событий при этом закономерно идет в следующем направлении: «локальное повреждение → тромбоз → ишемия → некроз → кровотечение или инбибиция тканей кровью с частичной или полной утратой функции органа». Клиническое осмысление этой универсальной реакции может дать новые направления для разработки нестандартных подходов к антикоагулянтной профилактике рецидивов геморрагических катастроф или апоплексии жизненно важных органов. Apoplexia (от греческого apoplesso - «оглушаю») - термин, использующийся для характеристики быстро развившегося массивного кровоизлияния, изначально применявшийся при кровоизлияниях в мозг, но впоследствии нашедший свое место для обозначения кровоизлияний в другие паренхиматозные органы (надпочечники, поджелудочная железа, яичники и т. д.).

В одной из предыдущих работ мы

подчеркивали, что в дебюте своего развития локальное или диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови представляет собой один из наиболее важных, приобретенных в процессе филогенеза механизмов стабилизации гомеостаза при взаимодействии с внешней средой. Весьма вероятно, что с помощью данного механизма достигается возможность изоляции инфекционного начала, отграничения патологического очага и поврежденных тканей от тканей функциональных и жизнеспособных, реализуется генетически заложенная задача сохранения постоянства внутренней среды и жизнеспособности индивида [5]

Сходной точки зрения придерживаются и ряд других авторов. В частности, известный отечественный патофизиолог Б. И. Кузник с соавт. отмечает: «...ДВС-синдром на начальных этапах носит защитный характер, ибо микротромбообразование ограничивает очаг деструкции или воспаления и препятствует (создает барьер) распространению патогенной микрофлоры, бактериальных токсинов и продуктов деструкции тканей по организму» [25].

Для иллюстрации изложенного приводим результаты обследования в одной из клиник Барнаула больных с различными формами апоплексии яичника [26].

Под наблюдением находилась 21 женщина с апоплексией яичника, в том числе с болевой (ишемической. - **Прим. авторов)** формой - 11 и с геморрагической формой патологии - 10. В последнем случае больные оперировались по экстренным показаниям. Лабораторному исследованию на содержание D-димера подлежали периферическая венозная кровь больных и интраоперационно полученная жидкость, внешне сходная с кровью, излившаяся из поврежденного яичника. Определение D-димера проводилось с использованием тест-системы «NycoCard D-dimer» фирмы «Axis-Shield». Оказалось, что в этой жидкости у всех пациенток отмечался крайне высокий уровень D-димера, который, как известно, является классическим маркером реализации гемостатических реакций - фибринообразования и лизиса стабилизированного фибрина. Его концентрация в геморрагическом содержимом яичника колебалась в диапазоне от 2800 до 20000 нг/мл и составляла в среднем 6442±601 нг/мл (норма в плазме крови - до 300 нг/мл). При этом содержание D-димера в периферической крови больных с апоплексией яичника, как и другие показатели коагулограммы (табл. 1), было в пределах нормальных колебаний вне зависимости от варианта клинического течения данной патологии.

Полученные данные позволяют полагать, что одним из ведущих звеньев патогенеза при геморрагической форме апоплексии яичника является интенсивное местное фибринообразование с последующим тромболизисом в зоне патологического очага, что согласуется с классическим описанием локального ТГС.

Начиная с 70-х годов прошлого века понятие ТГС ассоциировалось прежде всего с генерализованной формой этой патологии, часто встречающейся при многих неотложных и критических состояниях - сепсисе, шоке, тяжелой травме, отравлениях и др. Эта форма ТГС в соответствии с решением Международного комитета по тромбозам и гемостазу (*Subcommittee on DIC of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Hemostasis - ISTH)* получила обозначение «синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания», или «ДВС-синдром»[1] [27].

Тем не менее разнообразие этиопатогенетических механизмов, сложность и многоликость данного синдрома нашли свое отражение в особенностях его терминологии, приведенной различными авторами и иногда используемой в современных публикациях: «коагулопатия потребления» *(G.Lasch),* «синдром дефибринации»[28], «синдром фибринации» [29], «синдром внутрисосудистого свертывания и фибринолиза» [30], «компенсированный и декомпенсированный ДВС-синдром» [20], «явный и неявный ДВС-синдром» [31] и др., что, однако, не меняет сути наблюдаемой клинической патологии [7; 32].

В соответствии с рекомендациями Международного комитета по тромбозам и гемостазу ДВС-синдром характеризуется внутрисосудистой активацией коагуляции в результате действия различных факторов на фоне потери самоконтроля системы гемостаза, приводящих к нарушению микроциркуляции с развитием органной дисфункции. Более детальную характеристику синдрома приводит 3. С. Баркаган: «Под ДВС-синдромом понимают неспецифический общепатологический процесс, связанный с поступлением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов, образованием тромбина, активацией и истощением плазменных ферментных систем, в первую очередь системы физиологических антикоагулянтов, а также свертывающей, фибринолитической и калликреин-кининовой систем, образованием в крови множества микросгустков и агрегатов клеток, блокирующих микроциркуляцию в органах, и развитие их гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции.



Рис. 1. Эволюция понятий о тромбогеморрагическом синдроме и ДВС-синдроме

1 - Понятие ДВС (Disseminated intravascular coagulation - DIC) впервые введенно D. MsKay [33]

Процесс сопровождается интоксикацией организма продуктами белкового распада и развитием тяжелого тромбо-геморрагического синдрома» [3].

Основными маркерами этого универсального общепатологического процесса являются не только и не столько фазовые сдвиги общих параметров коагулограммы, т. е. выявление смены фаз гипер- и гипокоагуляции с более или менее продолжительным переходным периодом, а наличие и неуклонное прогрессирование тромбинемии, нарастание содержания в плазме растворимого фибрина или растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), прогрессирование ряда клеточных маркеров ДВС-синдрома- в первую очередь спонтанной гиперагрегации тромбоцитов, тромбоцитопении потребления, а также фрагментации эритроцитов [34]. У этому нужно добавить, что ведущую роль в патогенезе, клинике и исходах острого ДВС-синдромаиграет истощение основных противосвертывающих механизмов – антитромбина III, протеина С, тромбомодклина, ингибитора тканевого пути свертывания. Именно этот веномен, а не фазовые изменения общих параметров коагулограммы, предопределяет основную направленность и методологию лечения ДВС-синдрома [3; 35; 36; 37].

К одним из практически важных вопросов дефиниции внутрисосудистого свертывания крови относится выбор критериев диагностики и дифференциации локального и диссеминированного ТГС (ДВС-синдрома). Этот вопрос сложен тем, что ТГС может быть латентным (выявляемым лишь по лабораторным признакам), т. е. клинически ничем не проявляться, и явным, клинически выраженным, когда парадоксальные сочетания тромбоза и блокады сосудов с кровоизлияниями и кровотечениями различной степени входят в число проявлений заболевания или определяются на секции. Переход от латентного ТГС к явному происходит внезапно, когда процесс образования тромбина достигает силы, достаточной для преодоления всех механизмов, препятствующих свертыванию, достаточным для массивного фибринообразования и блокирования капиллярной сети.

Локальный ТГС может проявляться лишь в виде той или иной степени выраженности органной дисфункции или кровотечения (инсульт мозга, апоплексия яичника, инфаркт почки и др.). Изменения в системе гемостаза при этом локализуются в зоне поражения и сдерживаются от распространения мощным антитромботическим потенциалом крови и сосудистой стенки. Если изменения теряют локальность, формируется ДВС-синдром, который на лабораторной (предклинической) стадии расценивается как защитный механизм элиминации корпускулярных тел (макрочастиц), аномальных клеток, продуктов их Деградации из организма (в основном через печень - купферовские клетки), переходящий при чрезмерной выраженности в патологию, угрожающую нарушением системного кровотока на микроциркуляторном уровне с трансформацией в дальнейшем при отсутствии адекватного лечения из фазы агрегации клеток крови в фазу микротромбоза сосудов [5].

Несмотря на значительное число опубликованных работ и рекомендаций, проблемы диагностики и особенно патогенетической терапии острого и подострого ДВС-синдрома остаются и в настоящее время крайне актуальными. Этот синдром еще редко распознается клиницистами, или такая диагностика проводится запоздало, после развития полиорганной недостаточности или тяжелых кровотечений, что часто приводит к позднему началу направленной терапии и, как следствие, к низкой выживаемости больных.

Диагностика ДВС-синдрома, как и прослеживание динамики его развития, должна строиться на ситуационной основе - учете всех видов патологии и всех критических состояний, при которых априорно можно считать развитие этого синдрома неизбежным. Наряду с этим показано, что клинической манифестации ДВС- синдрома (с появлением и нарастанием органной дисфункции и/или кровотечений) предшествуют геморео- логические и гемостатические нарушения в системном кровотоке [38; 39].

В ранних рекомендациях в число критериев лабораторной диагностики данного синдрома были включены [40; 41]:

1) разнонаправленные сдвиги общих коагуляционных тестов (силиконового, активированного парциального тромбопластинового, протромбинового и тромби- нового времени);

2) положительные паракоагуляционные тесты (этаноловый, протаминсульфатный), выявляющие в растворе, образующиеся под влиянием тромбина растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), являющиеся признаками внутрисосудистого свертывания;

3) снижение уровня в плазме фибринстабилизиру- ющего фактора (фактора XIII);

4) увеличение содержания фибриногена в плазме большинства больных, а в крайне тяжелых случаях - его снижение;

5) снижение уровня антитромбина III;

6) увеличение содержания в сыворотке продуктов деградации фибрина и РФМК по показаниям теста склеивания стафилококков;

7) снижение чувствительности плазмы к гепарину по показателям индекса активации антитромбина и анти- коагулянтного резерва плазмы, что обусловлено как дефицитом антитромбина III, так и нарастанием содержания в плазме «белков острой фазы»;

8) ослабление эуглобулинового лизиса и XIIa-зави- симого фибринолиза вследствие гиперактивации и последующего истощения фибринолитической и кал- ликреин-кининовой систем;

9) резкое повышение спонтанной агрегации тромбоцитов, убыль наиболее активных клеток в микротромбы, умеренная тромбоцитопения (менее $150x10^9$/л);

10) увеличение уровня в плазме фактора Виллебран- да - свидетельство повреждения эндотелия бактериальными токсинами, эндогенными аутотоксинами и продуктами протеолиза. В последующем по мере накопления клинического опыта и уточнения патогенеза различных вариантов диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови произошел пересмотр и изменение этих диагностических критериев [3; 36; 41; 42]. Сегодня к ним относятся:

1) тромбоцитопения (число тромбоцитов в крови менее $150x10^9$/л);

2) появление в крови числа поврежденных, фрагментированных эритроцитов, как следствие их

Показатели коагуляционного гемостаза, фибринолитической активности и маркеры тромбинемии в плазме крови из кубитальной вены у больных с апоплексией яичника и у здоровых женщин

Показатели коагулограммы	Апоплексия яичника				Контрольная группа (n=22)	
	болевая форма (n=11)		геморрагическая форма (n=10)			
Активированное парциальное тромбопластиновое время, с	37,2	0,8	36,4	1,2	38,7	0,4
Протромбиновое время, с	14,8	0,4	15,5	0,3	14,3	0,1
Тромбиновое время, с	14,7	0,2	14,9	0,3	15	0,1
Фибриноген, г/л	3,2	0,2	3,3	0,2	2,9	0,1
Растворимые фибрин-мономерные комплексы в плазме крови, мг/100 мл	3,73	1,26	3,65	1,34	3	0,1
D-димер, нг/мл	215	28,3	238,1	25	До 300	

прохождения через сеть заблокированных нитями фибрина микрососудов;

3) повышенный уровень микровезикул - мембранных фрагментов, отделяемых при активации и апоптозе клеток и обладающих прокоагулянтной активностью. Способность образовывать эти частицы и оказывать влияние на гемокоагуляцию присуща тромбоцитам, эндотелиоцитам и моноцитам;

4) увеличение в плазме уровня фактора Виллебран- да и эндотелина I - маркеров повреждения эндотелия кровеносных сосудов;

5) разнонаправленные сдвиги показателей общих коагуляционных тестов (активированного парциального тромбопластинового, протромбинового и тромбинового времени);

6) гиперфибриногенемия, лишь в острых случаях гипофибриногенемия;

7) снижение активности фактора XIII;

8) нарастание содержания в плазме крови продуктов деградации фибрина, в первую очередь D-димера, и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК);

9) снижение активности физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, протеина С) и уровня плаз- миногена.

Принципиально важной представляется также диагностическая и прогностическая роль увеличенного
числа лейкоцитов в крови (сравнительно крупные клетки усиливают стаз в зоне микроциркуляции) и повышения концентрации в крови острофазового С-реактивного белка, поскольку связь процессов воспаления и
изменений в системе гемокоагуляции является законо-мерной, она опосредована общими плазменными и клеточными компонентами [5; 25].

К числу наиболее часто определяемых в плазме крови свидетелей тромбинемии относят РФМК и D-димер. Разработанный в нашей клинике быстрый количественный метод определения РФМК с помощью легко и быстро выполнимого ортро-фенантролинового теста в значительной степени позволяет отследить степень напряжения в активации свертывания крови [43]. Динамика показаний указанного теста позволяет четко определять, удается ли врачу справиться с тромбинемией и заблокировать процесс внутрисосудистого свертывания крови, либо убедиться в том, что этот процесс остается неуправляемым.

С другой стороны, D-димер формируется и накапливается в кровотоке при образовании (в результате активации свертывания крови) и последующем растворении плазмином стабилизированного фактором XIIIa фибрина. Определение уровня в плазме крови D-димера является универсальным свидетельством того, что в организме произошло массивное свертывание крови (тромбоэмболический или ДВС-синдром), которому интенсивно противодействует плазминовая система. Эти определения дополняются исследованием уровня плазминогена в крови. Последний истощается как при массивном свертывании (в частности, при острых и подострых ДВС-синдромах), так и после введения больному больших доз активаторов плазминогена (стрептокиназы, тканевого активатора и др.).

В заключение отметим, что единство в понимании терминологии и взаимопонимание между специалистами в различных областях клинической медицины, несомненно, должны вести к дальнейшему развитию учения о ДВС-синдроме и дальнейшей разработке высокоэффективных методов его профилактики и лечения.

О РОЛИ И ВЗАИМОСВЯЗИ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ В ФОРМИРОВАНИИ ОЧАГОВ ГНОЙНОЙ ДЕСТРУКЦИИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Я. Н. Шойхет[1], А. П. Момот[2]

1 - ГОУ В ПО «Алтайский государственный медицинский уштисрситст Росздрава»;

2 - Алтайский филиал ГУ «Гематологический научный центр РАМН», г. Барнаул, Россия

В настоящее время определено, что синдром дис семинированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) является непреложным спутников многих критических и неотложных состояний, к числу которых относят тяжелые инфекционные поражения органов и тканей, сепсис, поли травму и травматичные операции, острые отравления и гемолитические кризы, антенатальную гибель плода и эмболию околоплодными водами в родах, - доступны описания более 150 клинических ситуаций, закономерно сопровождающихся развитием этой сложной и опасной для жизни больного патофизиологической реакции [2. 5, 15] Летальность при инфекционно-септическом ДВС-синдроме зависит от своевременной диагностики, адекватности и эффективности этиотропной и патогенетической терапии этого синдрома, выраженности органной (полиорганной) дисфункции и остается до последнего времени весьма высокой по данным разных авторов, от 12% до 60% [4; 25].

Вместе с тем есть основания полагать, что в дебюте своего развития локальное или диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови являет собой один из наиболее важных, приобретенных в процессе филогенеза, механизмов стабилизации гомеостаза при взаимодействии с внешней средой. Весьма вероятно, что с помощью данного механизма достигается возможность изоляции инфекционного начала, отграничения патологического очага и поврежденных тканей от тканей функциональных и жизнеспособных, реализуется генетически заложенная задача сохранения постоянства внутренней среды и жизнеспособности индивида.

Проблемы инфекционной патологии, развития острого гнойного процесса в паренхиматозных органах хорошо изучены с позиций бактериальной инвазии и чувствительности возбудителей инфекции к антибиотикам. При этом роль системы гемостаза, объединяющей тромбоцитарное звено, коагуляционное, антикоагулянтное и фибринолитичеекое как физиологического фактора защиты при инфекционных поражениях органов и тканей учтена совершенно недостаточно. В современной литературе акценты делаются преимущественно на иммунологических меха- низмах отражения внешней агрессии [18]. Тем не менее будет ошибкой учитывать свертывание крови и воспаление как два независимых процесса, по- скольку имеется ряд общих звеньев, которые делают их частью единой системы защитного ответа на проникновение в организм бактерий и вирусов. Эндотелий обеспечивает первое связующее звено, так как поврежденный монослой этих клеток при воспалении выполняет роль поверхности, на которой развертывается картина коагуляции и воспалении В процессе развития воспалительной реакции цитокины модулируют систему свертывания, уменьшая экспрессию тромбомодулина и активацию протеина С и параллельно способствуют генерации и выбросу в кровоток тканевого фактора (TF), нарушая баланс между прокоагулянтной и антикоагулянтной составляющими системы гемостаза. В то же время в месте повреждения активируются тромбоциты, выделяя ряд медиаторов, действие которых направлено на сохранение целостности гемоваскулярного барьера Тромбин, образующийся на месте экспрессии тканевого фактора, важен для гемостаза (трансформации фибриногена в фибрин, активации тромбоцитов и фактора XIII, протеина С и др.), но в тоже время он стимулирует ряд таких клеточных функций, как хемотаксис и митогенез, ответственных за распространение повреждения и репаративные процессы в тканях. Только баланс между биологически активными веществами с противоположной направленностью определяет. по какому пути пойдут процессы компенсации утраченных функций, а затем и восстановления или репарации. Так, достаточная активность плазменных ингибиторов протеиназ (a_2-макроглобулина, a_1-антитрипсина и антихимотрипсина, С.-ингибитора) в тканях защищает каркас стромы органа от протеолиза лейкоцитарными протеи назами, что сводит к минимуму вероятность гнойного воспаления. Не менее значимы в этом процессе и потенциал физиологических антикоагулянтов (антигромбина III, активированного протеина С, ингибитора тканевого пути свертывания) и в целом процессы балансировки в реализации эффектов гемостатических реакций, основы и последовательность которых были значительно пересмотрены в последнее десятилетие (рис 1).

Ниже приведены основные узлы равновесия системы гемокоагуляции:

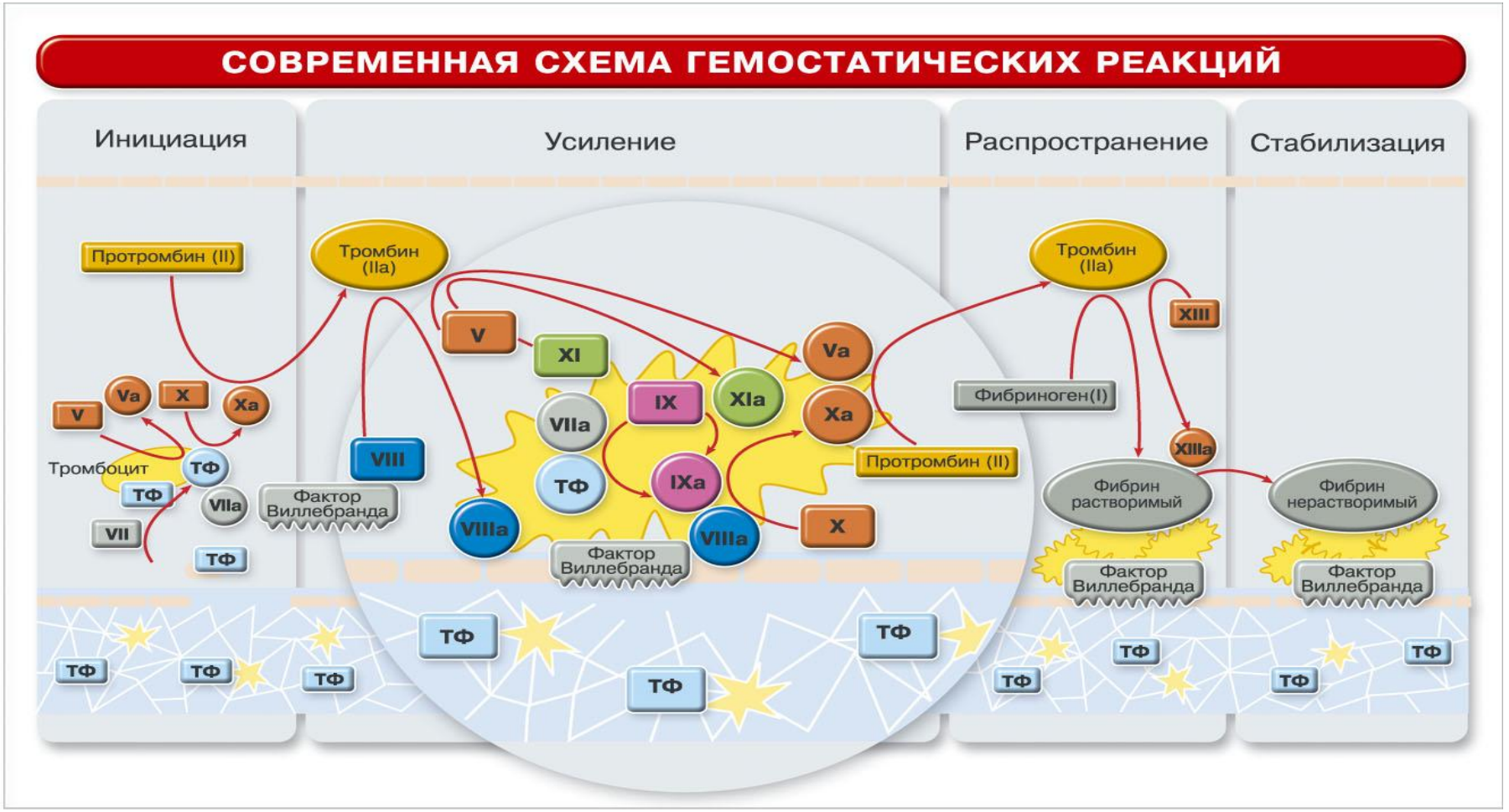


Рис. 1. Современная схема гемостатических реакций
Обозначения: ТФ - тканевой фактор, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XIII - факторы свертывания крови, то же с приставкой "а"- активированные факторы свертывания крови

1) агрегация ↔ дезагрегация тромбоцитов, связанное с этим взаимоотношение эффектов тромбоксан-простациклин (продукты метаболизма арахидоновой кислоты) в обеспечении функции тромбоцитов;
2) потребление ↔ перераспределение тромбоцитов в сосудистых регионах ↔ тромбоцитопоэз;
3) потребление ↔ синтез фибриногена:
4) тканевой фактор (TF) ↔ ингибитор пути тканевого фактора (TFPI);
5) гепарин ↔ антигепариновый фактор тромбоцитов (PF 4);
6) тромбин (фактор IIa) и его антагонизм (через образование коагуляционно неактивных комплексов) с антитромбином III, фибрином (адсорбция), тромбомодулином в комплексе с протеином С;
7) факторы IIa, Xa, IXa и XIa ↔ антитромбин III (в т. ч. в комплексе с гепарином);
8) факторы Va и VIIIa ↔ активтрованный протеин С;
9) низкая или излишне высокая стабилизация фибрина фактором XIIIa;
10) фибрин ↔ плазмин, лейкоцитарные протеазы.
11) тканевой активатор плазминогена (TPA) ↔ ингибитор активатора плазминогена I типа;
12) урокиназа ↔ ин ингибитор активатора плазминогена II типа.
13) ппазмин ↔ a_2-антиплазмин.

Можно отметить разнообразие точек «перегиба», от которых зависят успех и надежность или наоборот, низкая эффективность тромбоцитарно-фибринового блока, впрочем, эго связано со сложностью рассматриваемой системы.

Прежде чем более подробно остановиться на связи гемостгических и воспалительных реакций, напомним читателю, что согласно современным представлениям к ведущим механизмам развития ДВС-синдрома при сепсисе и эндотоксемии (при отсутствии терапии или низкой ее эффективности) относятся следующие процессы, отражающие сверхпороговое нарушение физиологического баланса клеточных и протеолитических систем (рис 2) [15, 23]

- начальная активация гемокоагуляционного каскада (прежде всего за счет фактора VII) тромбоцитов эндогенными факторами - тканевым фактором (тром - бопластином), лейкоцитарными протеиназами, продуктами распада тканей;
- персистирующая тромбонемия и первоначальная активация фибринолиза;

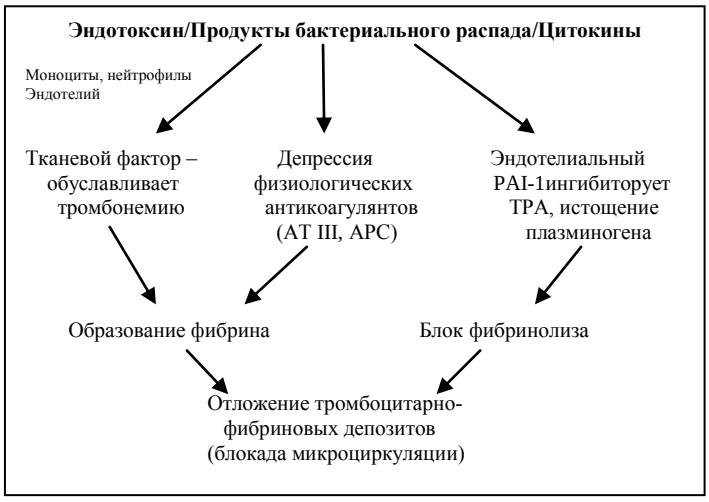


Рис. 2. Узловые механизмы развития ДВС-синдрома при сепсисе и эндотоксемии.
Обозначения: AT III - антитрмбин III, APC - активированный протеин С, TPA - тканевой активатор плазминогена, PAI-1 - ингибитор активатора плазминогена I типа [24]

- истощение физиологических ангикоагулянтов (антитромбина III, протеина С);
- образование микросгустков крови и блокада микроциркуляции в органах-мишенях (легкие, почки, мозг, надпочечники, печень, желудок и кишечник) с развитием в них дистрофических и деструктивных нарушений;
- активаций фибринолиза в зоне блокады микроциркуляции и истощение его резервов в общей циркуляции, доминирование экспрессии эндотелием кровеносных сосудов ингибиторов активации плазминогона (PAI-1) по сравнению с выбросом его активатора (TPA);
- потребление факторов гемокоагуляции и тромбоцитопения (или тромбоцитопатия) потребления, приводящее к системной кровоточивости и терминальной гипокоагуляции вплоть до полной несвертываемости крови (геморрагическая фаза синдрома);
- вторичная тяжелая эндогенная интоксикация с прогрессирующей полиарганной недостаточностью (синдром системной воспалительной реакции - SIRS-синдром).

Возможно, важную роль в паритете реакций, ответственных за сохранение гомеостаза и процессов инициации локального и диссеминированного внутрисосудистого свертывания, играют и так называемые микровезикулы - мембранные фрагменты, отделяемые при активации и апоптозе клеток и обладающие прокоагулянтной активностью. Способность образовывать эти частицы присуща преимущественно тромбоцитам, эндотолиоцитам и моноцитам - классическим клеткам-мишеням и эффекторам при вирусной и бактериальной инвазии (рис. 3, 4, 5). В условиях нормы наружные клеточные мембраны ареактивны, однако они приобретают свойства прокоагулянта о результате модификации структуры самой мембраны, тем самым способствуя распространению прокоагулянтной поверхности внутри кровеносных сосудов [1; 27].

Перестройка мембраны происходит следующим образом. Первоначально молекулы отрицательно заряженных фосфолипидов фосфатидилсерина и фосфотидилэтаноламина - обращены во внутреннюю поверхность мембраны, а центральный - фосфатидилхолим - обращен на наружную. При моди фикации в результате трансмембранного перемещения *(«флип-флол»*-феномен) головки отрицательно заряженных фосфолипидов выходят на внешнюю поверхность фосфолипидного слоя мембраны. В итоге такого трансформирования участки мембраны (эпитопы) и приобретают указанные свойства [21]. В соответствии с данными полученными проф. Д.М. Зубаировым и соавт. [8-11], фрагменты клеточных мембран, образующиеся при экзоцитозе, некрозе и апоптозе, свободно циркулируют в крови и непосредственно участвуют в сборке факторов свертывания в теназный (IXa с VIIIa) и протромбиназный (Xa с Va) комплексы. Удаление мик

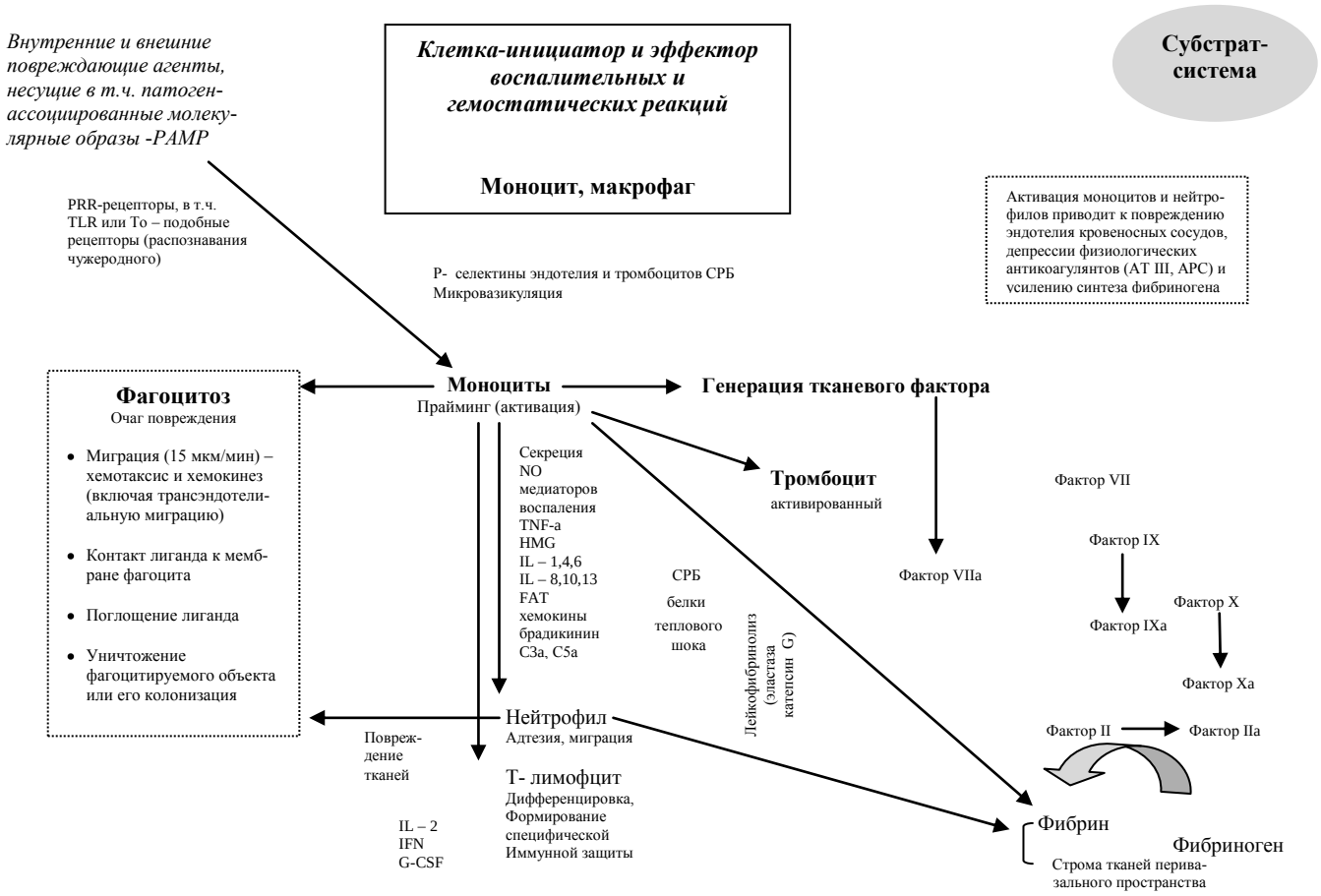
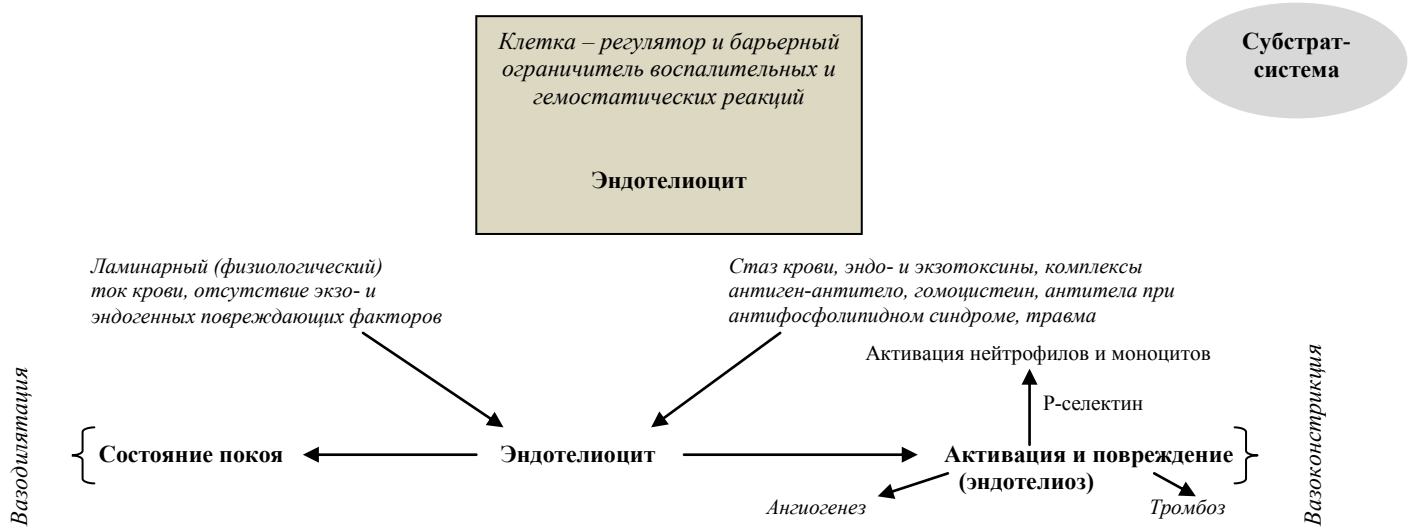


Рис. 3, Моноциты и тканевые макрофаги в инициации воспалительных и гемостатических механизмов защиты при тканевой деструкции.
Обозначения: NO - оксид азота, TNF-α - тумор-некротический фактор, HMG - белки высокой подвижности, IL –интерлейкин, FAT - фактор, активирующий тромбоциты, C3a и C5a - компоненты комплемента, IFN - интерферон, G-CSF - колонии, стимулирующие фактор гракулоцитов, CPB - С-реактивный белок, APC - активированный протеин

ровезикул, имеющих размеры от 0,5 до 3 мкм. из плазмы крови in vitro методами ультрацентрифугирования или микрофильтрации приводит к выраженной гипокоагуляции, а их избыток сопровождается гиперкоагуляционным сдвигом Процесс везикуляции in vivo запускается локально и кратковременно при низком пороге быстро исчезающего раздражителя и диссеминированно - при мощном по силе и длительно действующем факторе (например при эндотоксемии). В целом высокий уровень микровезикул, по данным исследователей, может рассматриваться в качестве. адаптивных изменений в ответ на воздействие внешних и внутренних факторов при различных видах патологии Исходя из концепции гомеостаза уровень этих субклеточных образований, вероятно, отражает баланс между пролиферацией, активацией и гибелью клетки. Сдвиг в одном из этик направлений ведет к патологическим нарушениям с существенными изменениями в составе микровезикул, зависящим от природы стимула, а дополнительно образующиеся частицы вызывают усиление ответа в клетках-мишенях (тромбоцитах, эндотелии кровеносных сосудов).

Функционирование системы гемостаза включено в эффективное кровоснабжение тканей, предупреждение кровопотерь и тромбозов, ишемий и инфарктов орган, защиту от диссеминации бактерий и токсинов и как всякая открытая система в организма использует различные сценарии развития событий при воздействии различных по выраженности стимулов. Экстремальное воздействие (под влиянием эндогенных и экзогенных факторов) инициирует ряд общебиологических реакций на молекулярном уровне, клеточном и тканевом, приводя в конечном итоге к блокаде микроциркуляции местной или системной, в зависимости от силы повреждающего агента и соотношения сил ответа (рис 6). Блокада микроциркуляции должна рассматриваться как основной компонент важнейших общепатологических процессов в организме, включая воспаление, деструкцию тканей (некрозы, гангрены), сепсис, диссеминацию злокачественных опухолей (формирование ракового эмбола, апликация его в отдаленном участке тела). Такая окклюзия, усугубленная микротромбозами сопровождается усилением артериовенозного сброса, приводящего к развитию гиперкинетического или гиподинамического типа кровообращения со снижением уровня газов крови и ишемизацией паренхиматозных органон, а также других тканей с вовлечем в процесс почек, печени, легких и др. жизненно важных органов, т. е. с формированием полиорганной недостаточности.

Особое место в ранней, генетически детерминированной защите тканей от инфекции (в распознавании и элиминации микробных тел) и инициации реакций гемостаза принадлежит моноцитам, а в паренхиме органов - тканевым макрофагам (рис 3). Эти клетки могут рассматриваться как универсальное пусковое звено на уровне клетки и связующее звено воспалительных и гемостатических реакций в крови и тканях. Они, как и тромбоциты при ранении сосуда, первыми реагируют на чужеродное (грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибы, простейшие) посред-



Гаранты антитромботических свойств эндотелия:

- Синтез простациклина (антиагрегант)
- Синтез оксида азота (вазодилятор)
- Синтез тромбомодулина (ингибитор тромбина)
- Синтез ингибитора внешнего пути свертывания (TFPI)
- Синтез тканевого активатора плазминогена (TPA)
- Синтез гликозаминогликанов (гепариноподобная активность)
- Синтез АДФ-азы (нейтрализует АДФ эритроцитов)
- Синтез и экспресс аннексина II (антикоагулянт)

Процессы, обуславливающие тромбогенные свойства эндотелия:

- Синтез тромбоксана A_2 (проагрегант)
- Синтез фактора Виллебранда
- Синтез тканевого фактора (TF)
- Синтез ингибитора активатора плазминогена (PAI-1)
- Синтез фактора V
- Синтез фактора, активирующего тромбоциты (FAT)
- Микровезикуляция (участие в сборке факторов свертывания в теназный (IXa с VIIIa) и протромбиназный (Xa с Va) комплексы)
- Экспрессия молекул, обеспечивающих адгезию клетоккрови к месту повреждения – адгезивной молекулы – 1 (ICAM- адгезии (PECAM – 1).

Рис. 4. Место эндотелиальных клеток в обеспечении гемостатических и воспалительных реакций

ством собственных PRR-рецепторов, чувствительных к так называемым патоген- ассоциированным молекулярным образам (PAMP), свойственным подавляющему большинству природных патогенов [25]. Можно выделить ряд последовательных реакций (эффекторных воздействий) моноцитов и тканевых макрофагов при контакте с инфекционными и другими инородными агентами:

1) быстрая реакция - *минуты* - фагоцитоз (поглощение инфекта, его уничтожение или колонизация при незавершенном фагоцитозе);

2) среднесрочная реакция - *часы*

а) синтез и экспрессия тканевого фактора (TF), обус-ловливающего процессы фибринообразования и при индукции тромбинемии - агрегации тромбоцитов,

б) передача информации об инфекте нейтрофилам (ПМЯ-лейкоцитам) посредством цитокинов и хемокинов.

3) отдаленная реакция – *сутки, недели* - включение механизма защитного гуморального ответа иммунокомпетентных клеток (Т и В-лимфоцитов).

Клеточный компонент реакции иммунной системы обусловлен активацией помимо моноцитов и макрофагов - нейтрофилов и лимфоцитов и проявляется адгезией, хемотаксисом и хемокинезом этих клеток. В реализации лейкоцитарных механизмов защиты от патогенов немалое значение имеет баланс медиаторов - высвобождающихся из моноцитов и ряда других клеток средств межклеточной сигнализации в месте повреждении или системно - провоспалительных цитокинов и хемокинов (интерлейкины 1,6,8,12, фактор, активирующий тромбоциты - FAT, тумор-некротичеекюй фактор α - TNF-α белков высокой подвижности и фактор подавления макрофагов) и противовоспалительных цитокинов (интерлейкины 4, 10, 11, 13, 1RA, тканевой фактор роста и простациклин или PGI_2), которые наряду с участием в процессе нейтрализации чужеродного агента способны повышать сосудистую проницаемость и повреждать собственные ткани.

Между кровью и тканевой жидкостью происходят постоянный обмен веществ и транспорт воды, несущей растворенные в ней продукты обмена, гормоны, газы, биологически активные соединения. Следовательно, внутренняя среда организма выглядит как единая система гуморального транспорта, включающая общее кровообращение и движение в последовательной цели, кровь ↔ интерстициальная жидкость ↔ткань (клетка) ↔ интерстициальная жидкость ↔ лимфа ↔ кровь. Отек ткани возникает, когда жидкость фильтруйся через микроциркуляторное русло быстрее, чем удаляется лимфатической системой. Увеличение проницаемости стенки капилляра связано с функционированием эндотелия кровеносных сосудов и сопровождает любой отек, в т.ч. при воспалении. Очень важно, что перераспределение плазмы крови в перивазальное пространство предшествует миграции фагоцитов в зону тканевого повреждения и микробной инвазии, создавая всякий раз уникальное микроокружение в зоне патологического очага. При этом качественный и количественный состав цитокинов, экспрессируемых лейкоцитами и тромбоцитами, в значительной мере зависит от качественного состава плазмы крови, поступившей в ткачи с отечной жидкостью. Таким образом, опосредованное цитокинами межклеточное взаимодействие при воспалении не является самодостаточным, оно зависит от регуляторных влияний компонентов плазмы крови. Каскадные реакции плазмы крови не только в сосудистом русле, но прежде всего в тканях определяют, останется повреждение локальным или системная реакция всего организма станет ведущим фактором патогенеза, включая развитие тяжелого ДВС-сиидрома. К последнему предрасполагают генетически детерминированные способности макрофагов и нейтрофилов к быстрой активации свертывания крови посредством экспрессии тканевого фактора (TF), повреждению эи до гелия, лабилизации тромбоцитов и снижению ангикоа гулянтного резерва плазмы крови.

В физиологических условиях сама анатомическая структура органов обеспечивает достаточные барьерные функции. При воспалении структурно ограничительные функции выполняют другие системы организма. При любом повреждении тканей *основным физиологическим барьером* становятся стенка микрососуда и монослой эндотелиальных клеток (рис. 7), проницаемость которых в физиологических условиях для клеток и белковых растворов весьма ограничена. Тем не менее допускается, что в интерстиции возможно присутствие небольших концентраций всех плазменных факторов свертывания, естественных антикоагулянтов, компонентов фибринолиза и других белковых и небелковых составляющих жидкой части кроли [12].

Эндотелиоцит является одновременно и инициатором запуска каскада плазменных и клеточных реакций, и мишенью цитокинов, вазоактивных пептидов и гормонов. Локальная или системная дисфункция эндотелия, проявляющаяся в угнетении его антикоагулянтных и усилении прокоагулянтных свойств, играет огромное значение в процессах адаптации и дезадаптации в патологии тканей и органов (рис. 4). Эндотелиальные клетки способны синтезировать и/или экспрессировать на своей поверхности различные вещества, модулирующие (способствующие или ингибирующие) тромбообразование. Мембраны эндотелиоцитов несут на себе рецепторы, которые опосредуют связывание с молекулярными лигандами и клетками, свободно циркулирующими в кровотоке. Эти клетки продуцируют большое количество вазоактивных факторов, большинство из которых помимо участия в регуляции сосудистого тонуса влияют на функциональную активность тромбоцитов и других клеточных элементов крови

Итак, при отсутствии каких-либо повреждений моно слой эндотелиоцитов обладает тромборезистентными свойствами, которые, обеспечиваются комплексом сложных физиоло гических механизмов, направленных на предупреждение активации тромбоцитов и лейкоцитов, ограничение образования тромбина и отложений фибрина, защиту от воздействия агрессивных кислородных соединений и проагрегационных нуклеотидов, а также поддержание реологической составляющей в пределах физиологической нормы. Весьма неоднозначным влиянием на противотромботический потенциал сосудистой стенки обладает эндотелин-1, синтезируемый как эндотелиоцитами, так и гладкомышечными клетками сосудистой стенки. Связывание эндотелина-1 со специфическими рецепторами эндотелиальных клеток стимулирует высвобождение простациклина и оксида азота. Результатом этого является снижение реактивности тромбоцитов и повышение тромборезистентности сосудистой стенки. В то же время сам эндотелин-1 является наиболее сильным вазоконстрикторным пептидом, что усиливает риск трамбогенных осложнений.

При действии на внутреннюю выстилку сосудов повреждающих факторов тромборезистентные свойства интимы сменяются на прокоагулянтные или тромбогонные Обязательным фактором этой транформа-

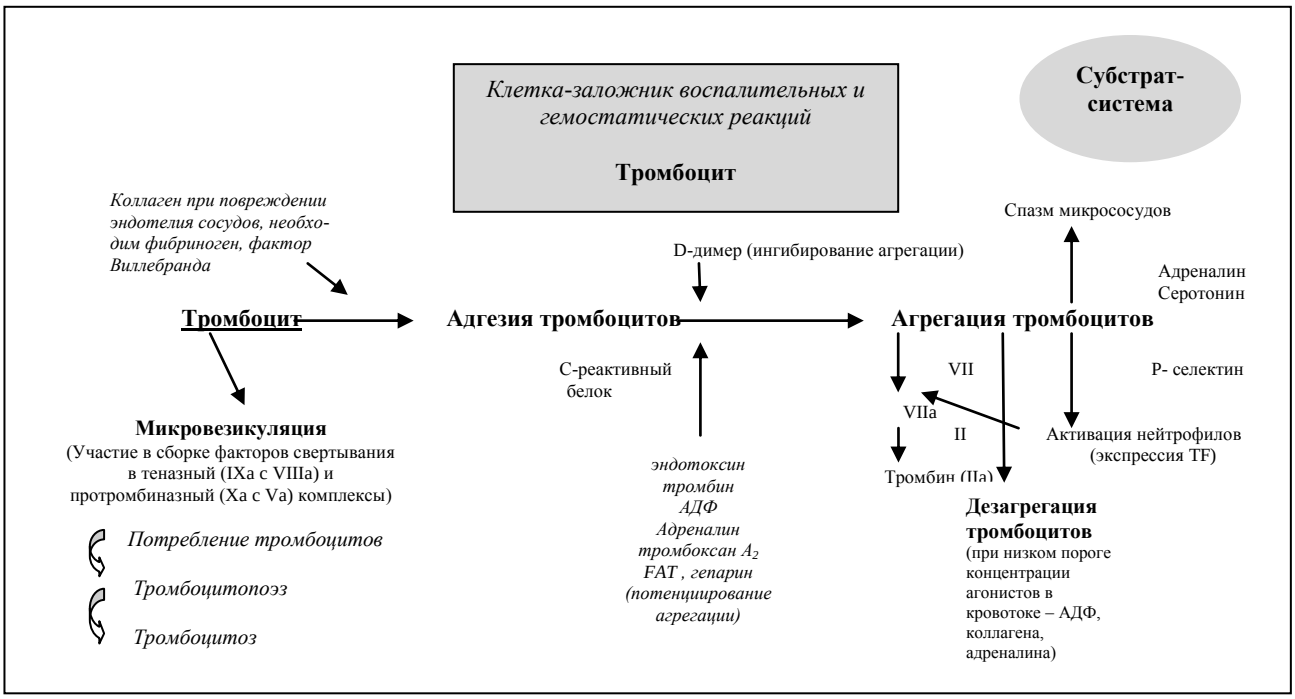


Рис. 5. Место тромбоцитов в обеспечении гемостатических и воспалительных реакций.
Обозначения: FAT - фактор, активирующий тромбоциты, TF - тканевой фактор, АДФ - аденозиндифосфат

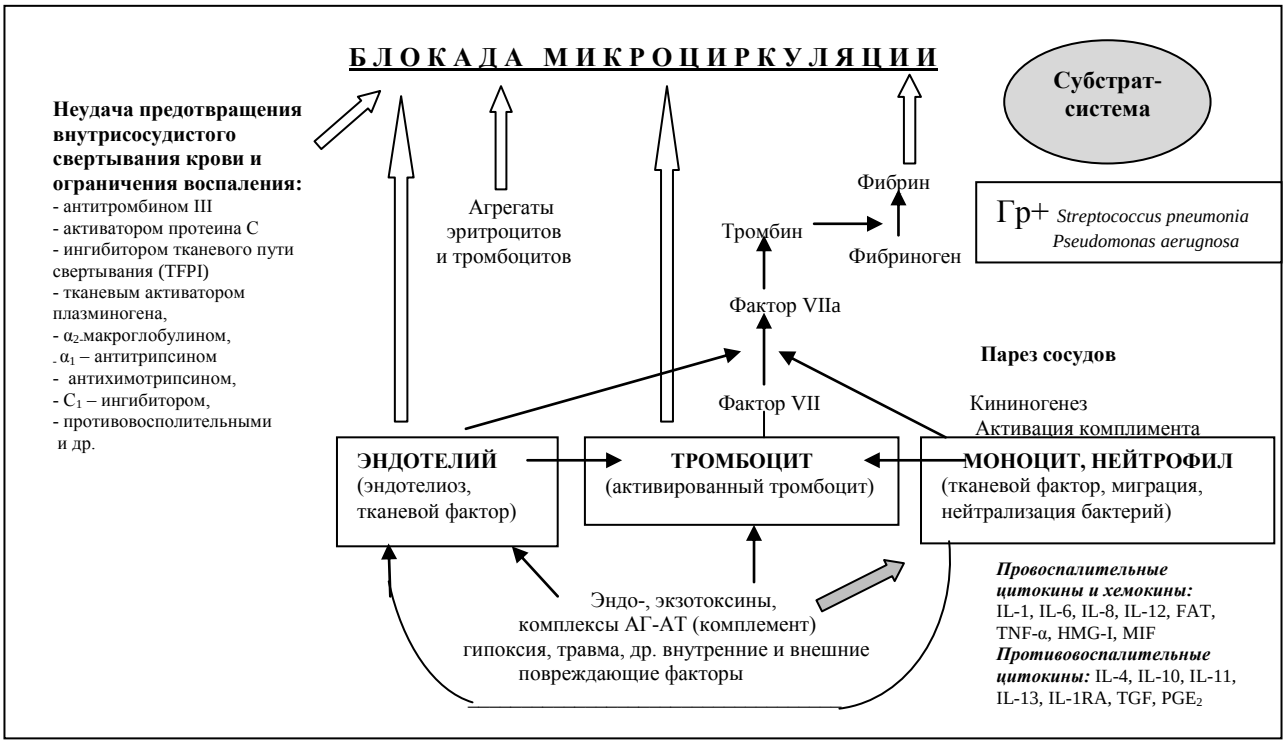


Рис. 6. Общая схема взаимодействующих сил, объединяющих эндотелий сосудов, клетки крови и плазменные ферментные и антиферментные системы при локальной и системной воспалительной реакции.
Обозначений: TNF-a - тумор-некротический фактор, IL - интерлейкин, TGF - тканевой фактор роста, PGE_2 - простагландин E_2, FAT - фактор активации тромбоцитов, HMG-1 - белки высокой подвижности, MIF-фактор подавления макрофагов

ции признается экспрессия тканевого фактора (TF), выступающего основным инициатором процесса свертывания крови (рис. 1) В результате слущивания эндотелия обнажается субэндотелий, происходит экспрессия адгезивных белков и рецепторов па поверхности клеток, уменьшение генерации простациклина, антиагрегационной активности тромбомодулина и др. К белкам субэндотелия, связывающим клетки крови, так называемым адгезивным белкам, относят коллаген, фактор Виллебранда, тромбоспондин и фибронектин. Последний способствует фиксации тромбоцитов и макрофагов к коллагену Фактор Виллебранда связывается с тромбоцитарными рецепторами (интегринами) - белками Ib и IIb/IIIa. С рецепторами IIb/IIIa связываются и другие адгезивные белки - фибриноген, что способствует агрегации тромбоцитов и усиливает тромбогенный сдвиг циркуляции [17].

Потеря стенкой сосуда тромборезистентных свойств сопровождается экспрессией молекул, обеспечивающих хемокинез и адгезию клеток крови к месту травмы, в том числе макрофагального хемотаксического и активирующего фактора (MCAF), внутриклеточной адгезивной модекугы-1 (ICAM-1) и молекулы тромбоцитарно-эндотелиальной адгезии (PECAM-1). В результате к поврежденной сосудистой стенке привлекаются моноциты, которые инфильтрируют и при всех других благоприятных условиях путем протеолиза восстанавливают ее целостность. Активированные эндотелиальные клетки выявляют и ряд рецепторов, обеспечивающих связывание их с клеточными элементами крови. Так. Е- и Р-селектины участвуют в процессах взаимодействия между лейкоцитами. тромбоцитами и эндотелиоцитами в качестве антагонистов по отношению друг к другу (рис 8). Активация клеток эндотелия может повлечь за собой экспрессию гликопротеиновыых рецепторов GPIb, взаимодействующих с фактором Виллебранда и $GP\beta_3$, опосредующих пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов и ангиогенез.

Этот приведенный выше краткий и неполный обзор вариантов реакции эндотелия кровеносных сосудов в норме и при сто повреждении тем не менее иллюстрирует и предопределяет важность и сложность драматических событий, развертывающихся на его поверхности и в ближайшем микроокружении при сепсисе, токсемии, массивной травме и других неотложных состояниях. Следует отметить, что общая направленность реакций эндотелиоцитов в ответ на агрессивное воздействие цитоксинов и эндоксинов носит явно тромбогенный характер, благодаря чему создаются благоприятные условия для формирования интраваскулярного тромбоцитарно-фибринового блока и миграции жидкой и клеточной составляющих крови в перивазальное пространство (табл 1).

Мы полагаем, что гнойные деструктивные заболевания легких и других органов, протекающие с тяжелым эндотелиозом и дострукцией ткани, могут сопровождаться несостоятельностью указанного блока. При этом макроизменение ткани, по всей видимости, неспособно обеспечить образование демаркационной зоны между здоровой и пораженной тканью, и формируются условия для диссеминации деструктивного процесса [13; 19] С другой стороны, нужно учесть, что внутри-сосудистые тромбы всегда имеют тромбоцитарно-фибриновую природу с большей или меньшей примесью эритроцитов (в зависимости от сосудистого русла - венозного или артериального) С участием этих двух главных субстратов (тромбоцитов и фибриногена) при формировании тромбов в зоне микроциркуляции воз

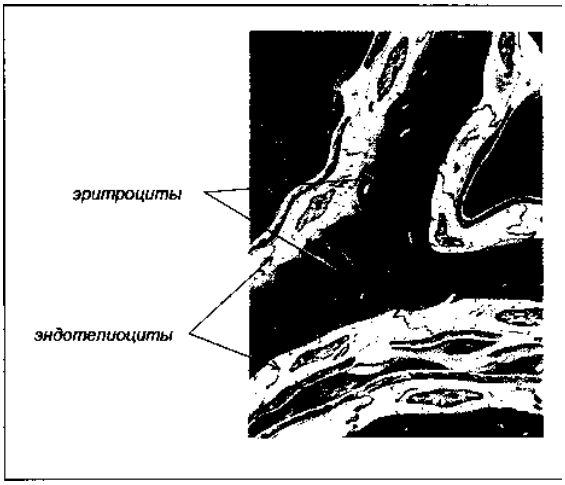


Рис. 7. Схема кровеносного капилляра (по H. Schmid-Schonbein, G. Grunau, H. Brauer. Exempla Haemorheologica, 1978)

никает риск и нередко реализуется интратромбальная дислокация микроорганизмов, их колонизация в
в тромбе, приводящая к разрастанию гнойного очага с выбросом микробной массы в кровоток с формированием хрониосепсиса и возможностью развития пиогенных метастазов.

В связи с этим следующий персонаж наших событий - тромбоциты, непосредственно участвующие в сложном каскаде гемостатических и воспалительных реакций (рис. 5). Это весьма лабильные клетки, отзывающиеся активацией,, адгезией к коллагену и агрегацией на многие, достаточно выраженные по силе и концентрации изменения, касающиеся состава крови, ее инородных примесей, а также состояния сосудистой стенки (табл.2),[22].

В физиологических условиях тромбоциты свободно перемещаются в циркулирующей крови, не прили пая друг к другу и эндотелиоцитам. При соприкосновении и с чужеродной поверхностью они приникают к ней, распластываются, вследствие чего их очертания изменяются - из дискоидных они превращаются в шиповидные с длинными тонкими псевдоподиями длина которых может превосходить в несколько раз диаметр троомбоцита (рис. 9) В процессе рецепторной активации тромбоцитов происходит дегрануляция этих клеток - высвобождение безбелковых (плотных) гранул, в состав которых входят такие активаторы пластинок, как АДФ, серотонин, адреналин, гистамин и др., и белковых α-гранул, содержащих факторы свертывания крови и фактор Виллебранда (табл. 3) Дегрануляция поддерживает процессы адгезии и агрегации тромбоцитов. Высвобождаемые из тромбоцитов белки - фактор Виллебранда, фибриноген, тромбоспондин - служат своеобразным клеем, который связывает тромбоциты друг с другом, причем тромбоспондин связывает тромбоциты с фибрином, коллагеном, эндотелеоцитами, моноцитами и макрофагами, благодаря чему последние фиксируются в месте повреждения сосуда. Именно благодаря тромбоспондину агрегации приобретает необратимый характер. Фибронектин синтезируется различными типами клеток, он связывает не только с рецепторами форменных элементов крови и эндотелиальных клеток, но и с фибрином, стабилизированным фактором XIIIa, что способствуем дальнейшему упрочнению фибринового сгустка. Агрегация тромбоцитов усиливается также под действием



Рис. 8. Схема участия активированных нейтрофилов в повреждении сосудистого эндотелия [7]

ряда веществ, выделяемых эндотелиальными клетками, эритроцитами, макрофагами и тучными клетками при воспалительных и иммунных реакциях (АДФ, адреналин серотонин, фактор, активирующий тромбоциты, - PAF и др.). В ряде клинических ситуаций причиной, способствующей активации тромбоцитов. служит гепарин, вводимый извне в лечебных или профилактических целях.

Цитоплазматические мембраны тромбоцитов и их рецепторы играют важную роль в реализации взаимодействия тромбоцитарно-сосудистого гемостаза с системой свертывания крови, особенно с пусковым механизмом последней (с комплексом факторов «тканевой фактор-VIIa-Xa-Ca») и подпороговыми количествами тромбина. Последний выступает и как мощный, активатор агрегации кровяных пластинок и образования тромбоцитарной пробки, и как фермент, обеспечивающий свертывание крови - трансформацию фибриногена в фибрин.

Ключевое значение для координации функций кровеносных сосудов и тромбоцитов имеют реакции кровяных пластинок опосредованные метаболизмом арахидоновой кислоты. Показано, что при активации громбоцитов в их цитоплазматической мембране-активируется фосфолипаза A_2, в связи с чем часть структурных фосфолипидов, из которых состоят эги мембраны, распадается до арахидоновой кислоты, последняя под влиянием циклооксигеназы 1 трансформируется в ряд простагландинов, а затем под влиянием тромбоксан-синтетазы в циклический простагландин - в тромбоксан A_2 (рис. 10). Последний является очень мощным вазоспастическим агентом и кратковременно действующим интенсивным стимулятором агрегации, примем источником тромбоксана A_2 служат к поврежденные эн дотелиальные клетки, тогда как в нормальном состоянии эти клетки вырабатывают простагландин I_2 (простациклин), который препятствует антиоспазму

Таблица 1

Основные эффекты эндотоксина и провоспалительных цитокинов, направленные на эндотелий кровеносных сосудов

1.	Снижение синтеза оксида азота (NO)
2.	Снижение генерации простациклина (PGI_2)
3.	Экспрессия тканевого фактора (TF)
4.	Синтез и высвобождение фактора агрегации тромбоцитов (FAT)
5.	Секреция фактора Виллебранда
6.	Снижение сектора TPA и повышение высвобождения PAI-1
7.	Снижение выявления тромбомодулина
8.	Экспрессия адгезивных молекул, опосредующих адгезию лейкоцитов

и агрегации тромбоцитов. Простагландины и другие метаболиты тромбоцитариого происхождения участвуют не только в регуляции функции тромбоцитов, но и в репаративных, защитных реакциях (иммунных, воспалении) а также канцерогенезе (табл. 4).

Агрегация тромбоцитов сопровождаемся и высвобождением из α-гранул активаторного рецептора Р-селсктина, который остается ассоциированным с плазматической мембраной тромбоцитов (рис. 5). Экспрессия на мембране лейкоцитов Р-селектин - связывающего гликопротеина-1 (PSGL-1) позволяет нейтрофилам присоединять и реагировать экспрессией тканевого фактора (TF). Связь нейтрофилов с тромбоцитами имеет немаловажное значение в реализации

Таблица 2

Субстанции, активирующие тромбоциты в норме и при патологии

В организме		
здорового человека		**больного**
в крови, в зоне повреждения сосудов	**в поврежденной стенке сосуда**	**в крови**
АДФ, эпинефрин (адреналин), серотонин, вазопарин, тромбин, плазмин,фактор, активирующий тромбоциты (FAT), тромбоксан A_2, простагландины G_2 и H_2, фактор Виллебранда	Коллаген, микрофиллы вокруг эластина, фактор Виллебранда	Протеолитические ферменты, эндотоксин, антитромбоцитарные антитела, комплексы антиген-антитело, бактерии, вирусы, опухолевые клетки

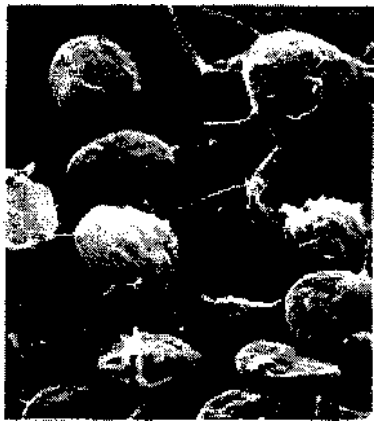


Рис. 9. Сканирующая цветная электронная микрофотограмма активированных тромбоцитов крови (источник: NIBSC/SPL, Bio Research International, Mart-Apnl/2008)

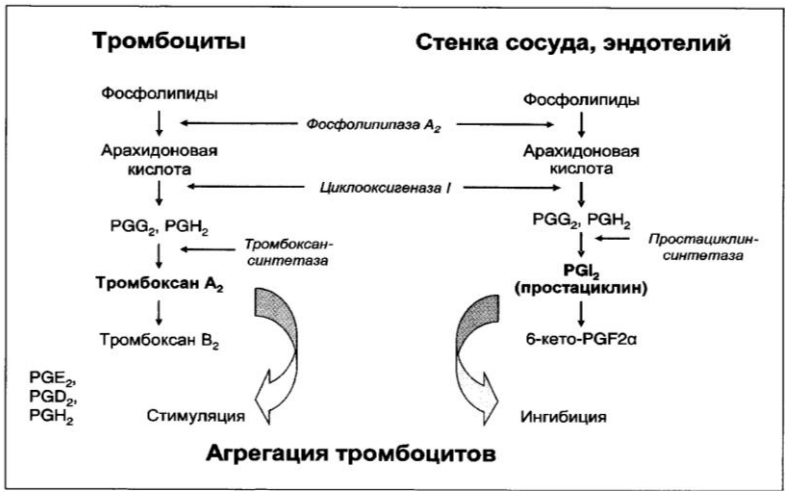


Рис. 10. Связь активности тромбоцитов с состоянием эндотелия сосудов, опосредованная метаболизмом арахидоновой кислоты [15] Обозначения: PG - простогландин

репаративнных и воспалительных реакций, возникающих в ответ на повреждение. Нейтрофилы после связывания способны секретировать адгезивные молекулы и интерлейкины. Некоторые из интерлейкинов, в частностии интерлейкин-1 (IL-1) и фактор некроза опухоли-α, активируют в свою очередь эндотелиальные клетки [17]. Интересно, что взаимодействие (в контексте описываемых событий) гранулоцитов с эндогелием приводит к перемещению их вдоль сосудистой стенки с последующей трансэндотолиальной миграцией в субэндотелий и перивазальное пространство.

Эти данные позволяют утверждать., что помимо не посредственного участия в тромбообразовании тромбоциты способствуют защитным и воспалительным реакциям организма путем удаления из циркулирующей крови андотоксинов, иммунных комплексов, инородных частиц и бактерий, опухолевых клеток (путем пиноцитоза, агрегации тромбоцитов, элиминации измененных тромбоцитов и их агрегатов) вследствие выделения из тромбоцитов хемотактических факторов, доступности Р-селектина (что приводит к скоплению лейкоцитов), а также факторов повышения сосудистой проницаемости (через 12-гидроксиэйкозатетраеновую кислоту - 12-HETE, простагландин E_1, способствующих экссудации).

Отметим, что системное повреждение эндотелия кровеносных сосудов и прогрессирующая тромбоцитопения потребления с одновременным повышением содержания агрегатов тромбоцитов в циркулирующей крови являются закономерным проявлением инфекционно-септического ДВС-синдрома. В результате активации этого звена гемостаза основная масса наиболее активных тромбоцитов включается в микротромбы, тогда как в циркуляции остаются более старые и функционально менее полноценные клетки, что при прогрессировании ДВС предрасполагает к развитию тяжелого геморрагического синдрома.

Вторым, а по значимости **первым** ведущим субстратом свертывания крови помимо тромбоцитов представлен фибриноген - предшественник нерастворимого фибрина. Еще в 1686 г. M. Malpighi описал структурную основу кровяного сгустка как белое фибриллярное вещество, которое можно увидеть после промывки красного кровяною сгустка водой [14]. Фибоиноген - уникальный белок плазмы крови, присутствующий в ней в сравнительно высокой концентрации (2-4 г/л), универсальность которого проявляется участием как в процессе свертывания крови, так и в воспалительных и иммунных реакциях (рис.11). Именно этот протеин, его реакции и взаимодействия заставляют думать о том, что существующее разграничение понятий свертывания крови и воспаления несостоятельно, и предполагать, что реакции гемостаза имеют гораздо более универсальное назначение, проистекая как внутри кровеносных сосудов, так и в тканях, окружающих эти сосуды.

Остановимся на некоторых свойствам фибриногена и основных этапах преобразования фибриногена в фибрин. Фибриноген - гликопротеид с молекулярной массой 330-340 кДа, который состоит из двух идентичных субъединиц, каждая из которых представлена тремя полипептидными цепями: Аα, Вβ и γ. В молекуле фибриногена различают три домена: один центральный (домен Е) и два периферических (домены Д) Обе субъединицы фибриногена имеют половину центрального домена Е и один периферический - Д (рис. 12) Аминотерминальные концы всех цепей находятся в домене Е, карбокситерминальные участки цепей Bb и g находятся в доменах Д, а Аα-цепи образуют два особых дополнительных домена αС, которые в целом характеризуют не только структуру белка, но и его функциональные свойства [6]. В частности, в доменах Д и Е имеются специфические центры, ответственные за стыковку фибрин-мономеров и образование полимера фибрина, а домены αС ответственны за глобулярное строение молекулы фибриногена и играют важную роль в механизме взаимного узнавания мономеров фибрина и в их взаимодействии. В завершении каскадных реакций свертывания крови под действием тромбина происходит преобразование растворимых молекул (фибриногена) в нерастворимые с образованием полимерной сети в виде геля фибрина Этот процесс принято делить на три этапа: 1) ферментативный в котором тромбин последовательно отщепляют от домена Е два фибринопептида А и два фибринопептида В, в результате чего образуется фибрин-мономер, способный кратно наращивать свою массу пои взаимодействии с другими, мономерами фибрина или с фибриногеном; 2) неферментативный в ходе которого происходит стыковка фибрин-мономеров по принципу «конец с серединой», при этом образуются остающиеся в растворенном состоянии комплексы (обозначаемые как проттофбриллы, олигрмеры фибрина, растворимый фибрин или растворимые фибрин-мономерные комплексы – РФМК), состоящие из 2-10 и более субъединиц. Критическая величина молекулярной

массы, при которой растворимость протофибрилл еще не утрачивается, составляет 10-12 масс фибриногена, или около 3,5-5,0 млн Да. На третьем этапе одновременно с образованием олигомеров фибрина происходит дополнительная сшивка фибрин –мономеров плазменной трансглутаминазной или фактором XIIIa, активация которого осуществляется тромбином и ионами кальция. В результате этого сгусток фибрина становится боте эластичным и резистентным к плазмину и лейкоцитарным протеиназам [3].

Итак, фибриноген - полифункциональный белок. Кроме того, что он является растворимым предшественником фибрина, который спонтанно полимеризуется с образованием фибриновой сети, фибриноген принимает участие в различных белок-белковых и белок-клеточных взаимодействиях в организме человека. Важную роль фибриноген играет в процессе агрегации тромбоцитов - его молекулы выполняют функцию «моста», который связывает тромбоциты друг с другом через интегриновые рецепторы $\alpha_{IIb}\beta_3$. В интраваскулярном сгустке фибрин всегда связан с активированными тромбоцитами (рис. 13). Время полужизни фибриногена в плазме крови составляет около четырех суток и, вероятно, является отражением его метаболизма (превращения в фибрин и протеолиза), что приводит к исчезновению фибриногена из циркулирующей крови. Фибриноген является острофазным белком, при воспалительных реакциях его концентрация в плазме крови может возрастать в 2-10 раз в ответ на повышение уровня интерлейкина-6, который секретируется макрофагами. Фибрин и продукты его распада (ПДФ - фрагменты D. DD, E) также способны стимулировать образование фибриногена преимущественно в гепатоцитах по принципу обратной связи (рис. 14). Интересно и практически значимо то, что D-димеры, высвобождаемые при лизисе поперечносшитого фибрина, одинаково идентифицируются коммерческими моноклональными антителами в случае как плазминового, так и лейкоцитарного протеолиза [12].

Ярким примером участия фибриногена в воспалительных реакциях являются адгезия и транс эндотелиальная миграция нейтрофилов и моноцитов. В этом процессе фибриноген также играет роль мостика. С одной стороны, он взаимодействует с интегриновыми рецепторами лейкоцитов $\alpha_м\beta_2$ или $\alpha_х\beta_2$, а с другой - с рецептором ICAM-1 (внутриклеточной адгезивной мо-. молекулы-1) на эндотелиоцитах. Кроме того, фибриноген стимулирует секрецию хемокинов макрофагами в экстраваскулярном пространстве, усиливая иммунный ответ при воспалительных реакциях [26]. Интересно, что данный эффект определяется связыванием, фибриногена и фибрина с Toll-like-4 рецепторами макрофагов, которые специфичны, как известно, к липополисахаридам бактерий (эндотоксину). Фибриноген содержит также Арг-Гли-Асп (RGD) последовательности аминокислотных остатков, которые являются известными сайтами взаимодействия с различными интегриновыми рецепторами. В развитии воспалительных реакций, а также в процессах заживления ран в функционировании данных сайтов наибольшее значение имеет фибрин, который образуется в местах повреждения тканей и выполняет функцию временного каркаса, на котором происходит адгезия, миграция и пролиферация лейкоцитов, эндотелиальных клеток и фибробластов [20]. При этом происходит взаимодействие между RGD-сайтами фибрина и интегриновыми рецепторами $\alpha_5\beta_1$ и $\alpha_v\beta_3$ указанных клеток. С другой стороны, продукты действия тромбина и плазмина на фибриноген (фибрино-пептид B, D-фрагмент и D-димер) являются хемоаттрактантами дня нейтрофилов и моноцитов с активностью, сравнимой с лейкотриеном B_4 и тромбацитарным фактором роста. Поскольку данные продукты протеолиза фибриногена и фибрина образуются па участках, где имеет моего повреждение целостности тканей, миграция в эти зоны лейкоцитов имеет решающее значение для воспалительных реакций, которые направлены на защиту от инфекции и других патогенных факторов.

Как отмечалось ранее, в процессе воспаления проницаемость стенок кровеносных сосудов значительно увеличивается. Помимо трансэндотелиальной миграции клеток крови с отечной жидкостью в зону тканевого повреждения поступают ингибиторы протоиназ, антиоксиданты, иммуноглобулины, опсонины и, что особенно важно, фибриноген вместе с другими белками плазмы крови с переносом коагуляционных реакций с участием тромбина и фибриногена в ткани органов. Следовательно, при инфекционной агрессии может создаваться патологический как внутри, так и **периваскулярный фибриновый блок,** представляющий собой **второй, или патологический, барьер** на пути распространения гнойной деструкции тканей, транслокации кишечной микрофлоры и генерализации инфекции Впрочем, значительная часть фибриногена, который не превратился в фибрин, а также растворимые формы фибрина (РФМК) способны возвращаться обратно в кровоток через лимфатические сосуды [16].

Фибрин - матрица для фибробластов или основа замещения тканей, необратимо утративших свои структуру и функцию, и при активности протеолиза, приводящего к растворению фибрина, на первый план могут выступать процессы фибриноорганизации и фиброза тканей. Ведущее значение в этом принадлежит веществам лейкоцитарного происхождения (протеазам - эл астазе гранулоцитов, катепсину G, катепсину D моноцитов, активным кислородным радикалам, ряду катионных белков), которые обладают не только бактерицидной активностью, но и мощным повреждающим потенциалом по отношению к собственным тканям. Установлено, что при развитии острого септического ДВС-синдрома уровень и активность трипсиноподобных протеаз лейкоцитарного происхождений в кровотоке увеличиваются в десятки раз [12].

Данные феномены представляют крайне высокий клинический интерес и могут быть доказаны при научном анализе последовательно протекающих в кровотоке и в поврежденных тканях процессов фибринооб разования (1), фибриноразрушения (2) и фибриноорганизации или замещения старых фибриновых отложений соединительной тканью (3) при гнойно-дейструктивных заболеваниях различных органов человека. При этом целесообразно учитывать следующие критически важные процессы реализации острого гнойного воспаления и гемостатических реакций:

1) повреждение эндотелия;

2) адгезия к поврежденной сосудистой стенке и агрегация тромбоцитов в кровотоке;

3) активация, миграция в ткани (в т. ч трансэндотелиальная) моноцитов, макрофагов и нейтрофилов;

4) завершенность фагоцитоза в крови и тканях,

5) степень перфузии и проницаемость сосудов пораженных тканей для плазмы;

6) тромбопластическая активность моноцитов, макрофагов и нейтрофилов в крови и тканях;

7) превращение фибриногена в фибрин и его стабилизация в крови и тканях;

8)протеолитическая активность моноцитов, макрофагов и нейтрофилов в крови и тканях;

Таблица 3

Основные группы рецепторов тромбоцитарной плазматической мембраны [17]

Группы мембранных рецепторов связываемых лигандов		**Связываемые лиганды**	**Обозначение отдельных рецепторов**	
1. Рецепторы для растворимых физиологических агонистов (сопряженных с высокомолекулярными G протеинами плазматической мембраны)	Адениновых нуклеидов	АДФ	P2-R	
	Биогенных аминов	Адреналин	α_2-adr-R	
		Серотонин	5-HT_2-K	
		Гистамин	H_1-R	
	Пептидных гормонов	Вазопрессин	V_1-R	
		Ангиотензин II		
	Ферментов	Тромбин	Thr-R типа (7 TM-R или STDR)	
		Плазмин		
	Липидов	PAF (фактор, активирующий тромбоциты)	PAF-R	
	Метаболитов арахидоновой кислоты	Тромбоксан A_2, PG (простагландин) G_2, PGH_2	TP-R	
		PGE_2	EP_3-R	
		PGE_1	EP_1-R	
2. Рецепторы для растворимых физиологических антагонистов (сопряженных с высокомолекулярными G протеинами)	Метаболитов арахидоновой кислоты	PGI_2	IP-R	
		PGE_2	EP_2-R, EP_1-R	
		PGD_2	DP-R	
	Биогенных аминов	Гистамин	HP_2-R	
		Норадреналин	β_2-adr-R	
		Аденозин	P_1-R	
3. Рецепторы для кофакторных белков адгезии и агрегации (плазмы и субэндотелиального матрикса)		Фактор Виллебранда и тромбин	Гликопротеины Ib-V-IX	
		Фибриноген	Гликопротеины Интегрины $a_{IIb}b_3$ GPIIb-IIIa	
		Витронектин	VN-R	$\alpha_V\beta_3$
		Фибронектин	GPIc-IIa	$\alpha_2\beta_1$
		Ламинин	GPIc-IIa	$\alpha_3\beta_1$
		Коллаген	GPIa-IIa	$\alpha_2\beta_1$
		Тромбоспондин	GPIIIb	

9) эффективная работа физиологических антикоагулянтов и активаторов фибринолиза (антитромбина III, протеина С, ингибитора тканевого пути свертывания крови, тканевого активатора плазминогена) в крови.

Резюме

Дистофия эндотелия и ослабление его тромборезистентности, проявляющееся снижением продукции простациклина, тканевого активатора плазминогена (ТПА) и числа тромбомодулиновых рецепторов при одновременном повышении поступления в кровь тканевого фактора, тромбоксана A_2, ингибитора ТПА (PAI-1) и других вазоспастических и тромбогенных субстанций, наряду с депрессией антикоагулянтных и фибринолитических свойств крови формируют панораму нарушений гемостаза при остром инфекционно-септическом ДВС-синдроме. Блокада микроциркуляции при этом обусловлена микроциркуляторными нарушениями и патогенным воздействием на эндотелий вазоактивных кининов, эндотелина, лейкоцитарных протеаз, фактора некроза опухоли и ряда других агентов, определяющих развитие системной воспалительной реакции на уровне целостного организма.

В противовес сложившемуся мнению специалистов о трагедии, связанной с развитием ДВС, мы полагаем, что этот синдром на лабораторной (предклинической)

Действие активных тромбоцитарных метаболитов и выделяемых субстанций на лейкоциты, реакции гемостаза и воспаления

Метаболиты/компоненты		Хемо-таксис	Эффекты тромбоцитов
семейство	**название**		
Производные мембранных фосфолипидов	Тромбоксан A_2		Повышает связь лейкоцитов с эндотелиоцитами и образование в лейкоцитах протеолитических ферментов
	Простагландин I_2		Вазодилятация
	12-HETE (12-гидроксиэйкоза-тетраеновая кислота)	+	В моноцитах увеличивает синтез и экспрессию тканевого фактора, в нейтрофилах – окислительный метаболизм, образование лейкотриена B_4, агрегацию и адгезию к эндотелию. В обеих клетках стимулирует образование хемокинов. В эндотелиоцитах усиливает генерацию простагландина I2, который улавливает ROS нейтрофилов, снижает адгезию лейкоцитов к стенке сосудов и агрегацию тромбоцитов
	PAF (фактор агрегации тромбоцитов)	+	Усиливает в нейтрофилах продукцию тканевого фактора, ROS, PAF. В тромбоцитах – интерлейкина-1β. Повышает адгезию и агрегацию лейкоцитов, проницаемость стенок сосудов
α-хемокины	PF4 (фактор 4 тромбоцитов)	+	Усиливает воспалительные реакции моноцитов, активность эластазы лейкоцитов. Иммеет нейтрализующую гепарин-активность
	B-TG (β-тромбоглобулин)	+++	Имеет слабо выраженную гепарин-нейтрализующую активность
β-хемокины	MIR - 1α (макро фагальный воспалительный протеин 1α)	+	Содействует активации и дифференциации тромбоцитов
	RANTES (регулируемый при активации нормальный Т-лимфоцитов фактор)	+	Образует мосты связи между эндотелиоцитами и моноцитами (задерживает перекатывание моноцитов)
	MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1)	+	Содействует миграции дифференциации моноцитов
Цитокины	Интерлейкин-8	+	Содействует задержке лейкоцитов
	Интерлейкин - 1β		Повышает экспрессию клеточных адгезивных молекул (CAM) в эндотелии и адгезию к нему лейкоцитов. Активирует сосудисто-тромбоцитарный гемостаз. Способствует гиперкоагуляции и подавлению фибринолиза
Факторы роста	PDGF	+++	Содействует вазоконстрикции, является митогеном для моноцитов, эндотелиоцитов, фибробластов
	TGFβ		Способствует заживлению ран, акивирует моноциты и нейтрофилы
	Ангиопоэтин		Стимулирует пролиферацию эндотелия кровеносных сосудов
β_3-интегрины	$A_{IIb}\beta_3$		Обеспечивает взаимосвязи тромбоцитов друг с другом, с нейтрофилами и моноцитами посредством фибриногена



Рис. 11. Метаболизм фибриногена и его роль в формировании патологического барьера в тканях

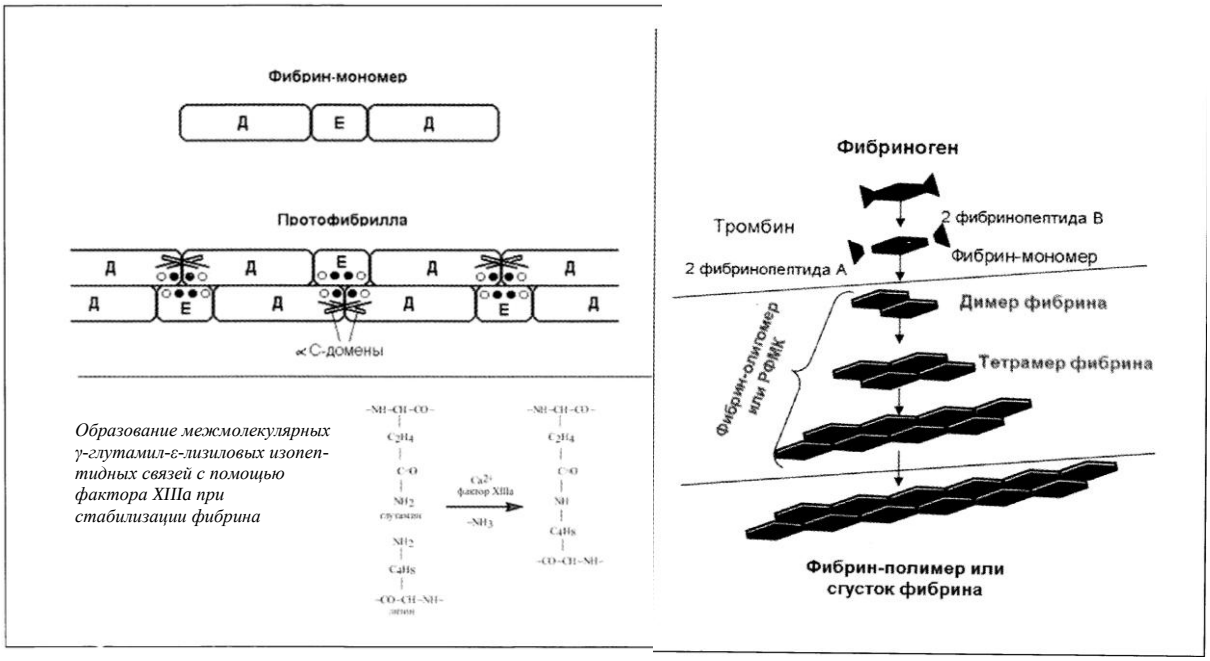


Рис. 12. Схемы полимеризации фибрин-мономера и стабилизации фибрина фактором XIIIa [6]. Примечание: в молекуле фибрин-мономера буквами обозначены домены Д и Е; в протофибрилле черные и белые кружки – комплементарные центры сборки (Д1, Д2, Е1 и Е2), принадлежащие доменам Д и Е

стадии является защитным механизмом элиминации корпускулярных тел (макрочастиц), аномальных клеток, продуктов их деградации из организма (в основном через печень - купферовские клетки), переходящим лишь при чрезмерной выраженности в патологию, угрожающую нарушением системного кровотока на микроциркуляторном уровне с переходом в дальнейшем и при отсутствии адекватного лечения из фазы активации и повреждения клеток крови и эндотелия в фазу распространенного тромбообразования в сосудах микроциркуляции.

Традиционные представления о двуединой задаче системы гемостаза - сохранение жидкого состояния крови в условиях физиологической нормы и остановка кровотечений при повреждении сосудистой стенки - не вполне отвечают той роли, которую она несет в кровеносных сосудах микроциркуляторного русла и в толще тканей. Мы полагаем, что не менее важными и принципиальными являются экстравазальные (периваскулярные) реакции гемостаза, которые во взаимодействии с механизмами воспаления обеспечивают за счет фибринового блока отграничение инфекционного начала и пораженной ткани от здоровой, способствуют санации гнойных очагов путем создания условий для успешного фагоцитоза и непосредственно участвуют в репаративных процессах в органах.



Рис. 13. Микрофотография фибрина с инкорпорированными тромбоцитами (по Marx) [22]

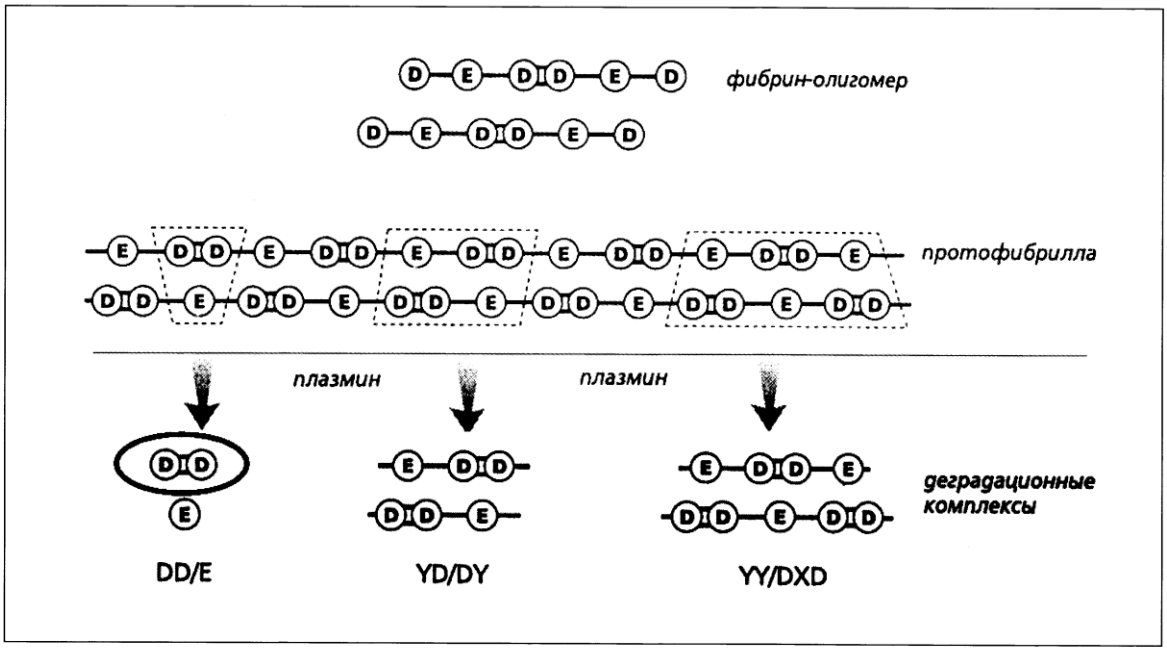


Рис. 14. Схема лизиса поперечно-сшитого фибрина плазмином [7].
Примечание: красным овалом отмечен D-димер – классический маркер фибринолиза плазмином и лейкоцитарными протеиназами

СВЯЗЬ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ЭМПИЕМОЙ ПЛЕВРЫ

УДК 615.25-002.3-005-2

Я. Н, Шойхет[1], А. П. Момот[2], С. Ю. Капитулин[1], И. А. Карбышев[3]

[1] **ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцраз- вития России, г. Барнаул**

[2] **Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**

[3] **Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Диагностический центр Алтайского края», г. Барнаул**

В данном проспективном исследовании проведен анализ связи гемостатических и воспалительных реакций с клиническим состоянием больных (по данным интегральных шкал APACHE II и SOFA) при острой эмпиеме плевры. При динамическом обследовании 93 пациентов установлены особенности этих реакций, а также проявления эндотелиоза в ответ на инфекционную агрессию. Повышение уровня знаний о различных механизмах активации воспаления и коагуляции может привести к лучшим дополнительным стратегиям управления лечебным процессом при критических состояниях.

Ключевые слова: гемостаз, воспаление, сосудистая стенка, острая эмпиема плевры

In this prospective study the assay of the association between hemostatic and inflammatory responses in clinically ill patients was conducted (according to AFACHEII and SOFA score) in acute empyema. In the dynamic assessment of 93 patients the specific features of these reactions were stated, as well as endotheliosis effects, in response to an infectious aggression. Increase knowledge about the different mechanisms of activation of inflammation and coagulation may lead to better additional management strategies of medical process in critical conditions.

Keywords: hemostasis, inflammation, vessel wall, acute empyema

Изменения в системе гемостаза при острой массивной инфекции, сепсисе описываются не только системной воспалительной реакцией, но и активацией свертывания крови, выраженным потреблением естественных антикоагулянтов и подавлением системы фибринолитических реакций [1; 2]. При тяжелом сепсисе мононуклеарные клетки, стимулируемые провоспалительными цитокинами, экспрессируют тканевый фактор, что приводит к системной активации коагуляции [3; 4]. У больных с сепсисом имеется системная активация и воспаления, и коагуляции крови. Имеется большое количество перекрестных связей между этими двумя системами, при которых не только воспаление приводит к активации системы свертывания, но и коагуляция значительно влияет на воспалительную активность. Эти закономерные патологические реакции на начальных этапах носят защитную функцию и используются для отграничения очага инфекции в зоне поражения [5-8]. Тем не менее сверхпороговые воздействия (эндогенные и экзогенные), накопление медиаторов воспаления и декомпенсация ключевых противосвертывающих механизмов наряду с ингибированием фибринолитических реакций способны привести к развитию патологического ДВС-синдрома [9], который закономерно возникает при сепсисе и сопровождается полиорганной недостаточностью (ПОН) [10].

По данным литературы, клинически значимые нарушения свертывания у больных с сепсисом встречаются у 50-70%, и лишь у 35% больных развивается тяжелый ДВС-синдром [11; 12]. Такие события проявляются отложениями фибрина в микроциркуляторном русле, которые лежат в основе формирования полиорганной недостаточности либо - значительно реже - тромбоэмболического синдрома, резко отягощающих состояние больных [11; 13-15]. Клинические ситуации, сопровождающиеся системной воспалительной реакцией (СВР), неразрывно связаны с активацией гемостаза [2 3; 6; 9;16]. Они проявляются в виде умеренной активации свертывания крови, незначительной тромбоцитопении и гипокоагуляции либо молниеносно развивающегося диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома) с множественными тромбозами и кровотечениями [17-20], У больных с тяжелыми формами ДВС-синдрома развитие полиорганной недостаточности (ПОН) определяет прогноз для жизни [13; 17; 21; 22].

Острая эмпиема плевры, как известно, относится к частым осложнениям внебольничной пневмонии и является одной из ведущих причин смерти в длинной череде присущих человеку инфекционных заболеваний [23, 24]. Летальность при этой патологии составляет 11,8-13,2% [25]. При эмпиеме плевры местом первичного воспалительного ответа на инфекционную агрессию являются легкие.

Активацию коагуляции и отложение фибрина в легочных сосудах и тканях как следствие воспаления можно считать важными реакциями для поддержания воспалительной активности в месте инфекционного повреждения, делая эти отношения физиологически необходимыми с точки зрения формирования патологического барьера между здоровой и поврежденной тканью [6]. В свою очередь вызванная воспалением активация гемостаза также способствует болезни, о чем говорит развитие коагулопатии, ассоциированной с тяжелой инфекцией и сепсисом [26].

Следует отметить, что течение гемостатических реакций в сопоставлении с воспалительными в развитии ПОН на примере эмпиемы плевры не изучалось ранее. В связи с этим целью настоящей работы явились оценка изменений гемостаза и фибринолиза, анализ их сопряжения и связи с маркерами воспаления и эндотелиальной дисфункции для уточнения механизмов развития патологического процесса и ПОН у больных с эмпиемой плевры.

Материалы и методы исследования

В данном проспективном исследовании проведено комплексное динамическое обследование 93 больных с эмпиемой плевры, проходивших лечение в отделении торакальной гнойной хирургии и реанимации КГБУЗ «Городская больница № 5»

г. Барнаула (основная группа). Исключались из исследования пациенты со специфической эмпиемой плевры, заболеваниями крови, первичным вирусным иммунодефицитом человека (ВИЧ) и вирусными гепатитами. Возраст больных варьировал от 21 до 82 лет, средний возраст составил 50,5 ± 1,29 года. Мужчин было 78 (83,8%), женщин - 15 (16,1%). Больные при поступлении были стратифицированы с учетом наличия полиорганной недостаточности: 1-я подгруппа, больные без ПОН - 72 пациента (77,4%), 2-я подгруппа с формированием ПОН - 21 пациент (22,6%).

Контрольную группу составили 26 практически здоровых людей, сходных по полу и возрасту с группой больных

До поступления в специализированное отделение большинство больных (61 из 93; 65,5%) в течение 1-4 недель получали интенсивную антибиотикотерапию в различных стационарах Алтайского края, что, однако, не имело заметного клинического эффекта, 14 (15,0%) пациентам до нашего наблюдения были произведены малые хирургические вмешательства, дренирующие гнойный процесс в плевре.

В отделении больным проводилось комплексное базисное лечение, включающее в себя антибиотикотерапию (с учетом чувствительности к ним микрофлоры, выделенной из мокроты, содержимого бронхов при бронхоскопии и плеврального экссудата), дренирование плевральной полости и последующую ее санацию антисептиками, гепаринотерапию, коррекцию волемических нарушений, дезинтоксикационную терапию, устранение нарушений функционального состояния системы кровообращения, печени, почек, нормализацию кислотно-щелочного состояния, назначение противовоспалительных препаратов и витаминотерапию. Наряду с этим использовались возможности физиотерапии и лечебной физкультуры.

Гепарин вводился подкожно 38 {40,8%) больным (по 2,5 тыс. ЕД через 6 часов, суточная доза составляла 10 тыс. ЕД) в соответствии с имеющимися рекомендациями [18; 27; 28].

У всех больных острой эмпиемой плевры при поступлении в стационар и в динамике заболевания оценивались ведущие клинико-лабораторные признаки синдрома системной воспалительной реакции (ССВР, или SIRS - Sistemic Inflammatory Respons Syndrom), принятые на Международной согласительной конференции Американского колледжа пульмонологов и Общества медицины критических состояний в Чикаго (1992 г.) [29]. Состояние тяжести больных и риск летальности в динамике развития заболевания оценивались по шкале APACHE II (the Acute Physiology, Age, Chronic Heath Evaluation) [30], а характеристика полиорганной недостаточности и динамическая оценка тяжести состояния - по шкале SOFA (Score Sequential Organ Failure assessment) [31; 32].

Лабораторное обследование выполнялось также в динамике - на 1-е, 3-5-е и 7-10-е сутки со дня госпитализации. Оно включало в себя исследование ряда параметров системы гемостаза [33] и маркеров системной воспалительной реакции согласно рекомендациям Согласительной конференции (American College of Chest Physicians and Society of Clinical Care Medicine - ACCP/SCCM Consensus Conference) [34]

Для этого кровь забиралась из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%). Кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 минут при комнатной температуре. Пробы плазмы исследовались, как правило, в первые два часа после получения. Перед проведением иммуноферментных анализов и оценки эндогенного тромбинового потенциала плазму хранили при температуре -40° С от одних суток до одного месяца. Исследовались следующие параметры плазмы крови

- **эндогенный тромбиновый потенциал** в тесте генерации тромбина (ТГТ), позволяющий измерять динамику образования и инактивации тромбина [35]. Для этого использован планшетный флюориметр Fluoroskan Ascent ThermoFisher SCIENTIFIC (Финляндия), оснащенный диспенсером, с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Коагуляция исследуемой плазмы крови осуществлялась в присутствии 5 pM тканевого фактора и 4 μM фосфолипидов, генерация тромбина регистрировалась посредством измерения сигнала от флуорогенного субстрата (Z-Gly-Gly-Arg-AMC). Учитывались следующие показатели ТГТ: ЭТП (endogenous thrombin potential - эндогенный тромбиновый потенциал, нМ*мин.) - рассчитывающий площадь под кривой генерации тромбина и учитывающий особенности инактивации этого фермента. Пик тромбина - Peak thrombin (пиковая концентрация тромбина, нМ) - максимальная концентрация тромбина в единицу времени, и tt Peak (время достижения пика тромбина, мин.) - время, за которое достигается максимальная концентрация тромбина;
- **основные субстраты свертывания крови:** концентрация фибриногена в плазме по Clauss* и количество тромбоцитов в венозной крови с использованием счетчика клеток крови МЕК-7222К (Nihon Kohden);
- **скрининговые коагуляционные тесты:** активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) по Caen et al. (1968)*, протромбиновое время (ПВ) по Quick (1935)*, тромбиновое время (ТВ) по Biggs, Macfarlane (1962)*;
- **активность фактора XIII** амидолитически, с помощью набора реагентов фирмы Siemens;
- **активность физиологических антикоагулянтов:** АТ III, амидолитически*, скрининг нарушений в системе протеина С* и активированный протеин С (АПС), амидолитически*;
-

маркеры тромбинемии: уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме - орто-фенантролиновым методом*; количественное определение D-димера в плазме крови проводилось на автоматическом иммунохимическом анализаторе Immulite 2000 (Siemens) с использованием реагентов для количественного твердофазного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа Immulite 2000 D-Dimer (Siemens);

- **фибринолитическая активность:** уровень плазминогена, амидолитически*, XIIa - зависимый лизис эуглобулинов*, количество t-PA и активность PAI-1 исследовали иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов t-PA Combi Actibind ELISA Kit и TECHNOZYM PAI-1 Actibind ELISA (Technoclone);

- **провоспалительные цитокины и белки острой фазы воспаления:** оценка уровней тумор-некротического фактора α (TNF-α), интерлейкина 1 (IL-1), интерлейкина 6 (1L-6) и С-реактивного белка (СРБ) выполнялась с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа на тест-системах производства ЗАО «Вектор- Бест»; «Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» и «СРБ-ИФА-БЕСТ (высокочувствительный)»;

- **маркеры эндотелиальной дисфункции:** концентрация эндотелина 1 и антигена фактора Виллебранда определялась с помощью иммуно-ферментного анализа с применением тест-систем для твердофазного иммуноферментного анализа ENDOTHELIN (1-21) (BIOMEDICA) и vWF: Ag ELISA (Technoclone) соответственно.

Статистическая обработка полученных данных осуществлена с использованием программ Microsoft Office Exel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc 12.2.1. Достоверность различий между средними величинами определяли с помощью критерия значимости Стьюдента (t). Нормальность распределений в группах оценивали по критерию Шапиро-Уилка. В том случае, когда распределение отклонялось от нормального, использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для двух независимых групп, а также ранговый коэффициент корреляции Спирмена (R). Когда экспериментальные данные были представлены в виде процентов или частот, использовался точный критерий Фишера, Для характеристики точности полученных значений определяли 95%-ный доверительный интервал. Статистически значимыми принимались различия $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У всех больных был выявлен сепсис, идентифицируемый по шкале SIRS, у 21 из них (22,5%) - тяжелый сепсис с наличием ПОН. Бактериемия была подтверждена у 5 из 93 больных (в 5,4% случаев), из них в 3 случаях (3,2%) выявлен Staph, aureus, в 2 (2,1%) - Klebsiella spp, В 3 случаях были идентифицированы грибы рода Candida (3,2%).

По данным комплексного обследования больных, при поступлении имелись наиболее высокие значения использованных оценочных шкал (табл. 1). В то же время в ходе лечения количество баллов снижалось у большинства наблюдаемых больных (в 92,7% случаев). Такая тенденция отсутствовала при летальном исходе у 6 (6,4%) больных (из них у 1 на 19-е сутки, у 3 на 31-е сутки и у 2 на 38-е сутки от времени госпитализации).

Для оценки тяжести состояния больных в динамике была использована шкала APACHE II. При сравнении полученных в анализируемых подгруппах результатов можно отметить, что они статистически значимо различались по количеству баллов, полученных с помощью данной шкалы, на всех этапах наблюдений. Так, наибольшая сумма баллов по шкале APACHE II в 1-е сутки послеоперационного периода зарегистрирована у больных второй подгруппы (с тяжелым сепсисом) и составила 10,81 [8-16] балла, в то время как у пациентов первой подгруппы - только 6,62 [2-12] балла. В последующем, на 3-5-е и 10-е сутки пребывания в стационаре, отмечено снижение количества баллов по шкале APACHE II в обеих подгруппах, но этот показатель оставался высоким на последней точке наблюдений у наиболее тяжелых больных с тяжелым сепсисом - 5,62 [2-10] балла.

Для оценки выраженности органной недостаточности была использована шкала SOFA. Необходимо отметить, что сумма баллов, полученных по данной шкале, была наибольшей во второй подгруппе основной группы и составила в 1-е сутки послеоперационного периода 3,18 [2-6], на 3-5-е сутки снижалась до 2,62 [1-5], но была статистически значимо выше по сравнению с первой под-группой больных ($P < 0,01$).

Как известно, реакциям системы гемостаза отводится важная роль в формировании и прогрессировании органной дисфункции при сепсисе [6; 36]. В связи с этим мы проследили способность плазмы крови больных с эмпиемой плевры к генерации тромбина как интегральному показателю, отражающему общую тромботическую готовность плазмы крови.

В результате динамических наблюдений по всей группе больных нами было установлено снижение эндогенного тромбинового потенциала (ЭТП) в сравнении как с контрольной группой, так и на протяжении заболевания с 1-х на 3-5-е сутки на 8,8% ($p < 0,02$) и с 1-х на 10-е сутки на 16,2% ($p < 0,001$) (табл. 2). Важно отметить, что во второй подгруппе больных с ПОН в день госпитализации имелся больший уровень ЕТР, который оставался высоким и на 10-е сутки наблюдений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в наиболее тяжелой группе больных с сепсисом и ПОН имеется сравнительно большая способность к генерации тромбина и, соответственно, более выражены процессы внутрисосудистого и периваскулярного тромбообразования.

Данная закономерность подтвердилась результатами корреляционного анализа связи меж ду интенсивностью генерации тромбина и тяжестью состояния пациентов по шкале APACHE II. В частности, между этими параметрами выявлена статистически значимая связь среди больных второй подгруппы на 3-5-е сутки наблюдений (табл. 3).--

*- отмечены реагенты и наборы реагентов производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия.

Для получения хрономитрических и амидолитических методов исследования применялся автоматический коагулометр Sysmex CA-1500.

Таблица 1

Клинико-лабораторная характеристика тяжести состояния больных эмпиемой плевры в динамике заболевания (по шкалам в баллах)

Шкалы	Сроки госпитализации от начала болезни (суток) и «р»	Основная группа больных (n=93)		Подгруппа основной группы больных				
				первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P
		$\overline{X}$	± m	$\overline{X}$	± m	$\overline{X}$	± m	
APACHE II	1	7,71	0,70	6,62	0,63	10,81	0,78	< 0,001
	3-5	6,08	0,58	4,10	0,59	7,88	0,66	< 0,001
	10	3,61	0,23	2,89	0,21	5,62	0,45	< 0,001
	$P_{1-(3-5)}$	> 0,05		< 0,001		< 0,01		
	$P_{(3-5)-10}$	< 0,001		> 0,05		< 0,01		
	P_{1-10}	< 0,001		< 0,001		< 0,001		
SOFA	1	2,19	0,20	1,84	0,20	3,18	0,40	< 0,01
	3-5	1,72	0,30	1,40	0,20	2,62	0,40	< 0,01
	10	1,16	0,45	0,90	0,40	1,88	0,51	> 0,05
	$P_{1-(3-5)}$	> 0,05		> 0,05		> 0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	> 0,05		> 0,05		> 0,05		
	P_{1-10}	< 0,02		< 0,02		< 0,02		

Таблица2

Динамика показателя ЭТП в тесте генерации тромбина у больных эмпиемой плевры

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 23)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n=72)		вторая (n=21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
ЭТП, нмоль/л	1	1505,77	94,00	1172,01	28,18	1154,41	36,03	1214,54	40,85	> 0,05	< 0,001	<0,01
	3-5			1068,49	34,58	1053,60	46,76	1100,52	43,52	> 0,05	< 0,001	<0,001
	10			981,75	48,23	857,89	51,30	1185,25	67,73	< 0,001	<0,001	< 0,01
	$P_{1-(3-5)}$			< 0,02		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		< 0,01		> 0,05				
	P_{1-10}			< 0,001		< 0,001		> 0,05				

Связь интенсивности генерации тромбина в плазме крови больных ЭТП с тяжестью заболевания

Таблица 3

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5е сутки	10-е сутки
С сепсисом (подгруппа 1)	ЭТП, нмоль/мин и SOFA, баллов	0,153 (P=0,183)	0,042 (P=0,0712)	0,103 (P=0,370)
	ЭТП, нмоль/мин и APACHE II, баллов	0,025 (P=0,823)	0,155 (P=0,360)	0,201 (P=0,081)
С тяжелым сепсисом и ПОН (подгруппа 2)	ЭТП, нмоль/мин и SOFA, баллы	0,056 (P=0,778)	0,104 (P=0,603)	0,205 (P=0,0304)
	ЭТП, нмоль/мин и APACHE II, баллов	0,077(P=0,699)	0,412 (P=0,032)	0,122 (P=0,543)

Приведенные данные не вполне согласуются с результатами, полученными А. В. Кречетовой [37] в работе, в которой система гемостаза исследовалась с помощью того же теста у 55 больных сепсисом и септическим шоком. По результатам данной работы в 1-е сутки наблюдений повышенный уровень ЭТП регистрировался в 53% случаях и сохранялся на протяжении 28 суток. Однако при быстром нарастании ПОН наблюдалось снижение ЭТП до нулевых значений. Мы не подтвердили эти закономерности, но необходимо учесть, что наши пациенты были взяты под наблюдение не в начальном периоде заболевания, а также на фоне реперфузии, сопутствующей дренированию плевральной полости и последующей ее санации,

К субстратам свертывания крови, имеющим отношение к развитию ПОН, в соответствии с классической схемой свертывания крови относят тромбоциты и фибриноген [17; 18].

Именно они составляют основу сгустков крови в различных сосудистых регионах - как в артериальном и венозном русле, так и в зоне микроциркуляции. Поэтому мы проследили динамику содержания данных участников гемостаза у больных с ЭП в зависимости от степени тяжести и сроков госпитализации. В таблице 4 приведены результаты подсчета числа тромбоцитов в крови в контрольной группе и у больных. По полученным данным количество тромбоцитов в целом у больных оказалось выше нормальных значений, но при развитии ПОН и тяжелом сепсисе число тромбоцитов было достоверно меньшим на 3-5-е и 10-е сутки наблюдений. Последнее может являться следствием более выраженной активации тромбоцитов, в том числе вследствие митогенного эффекта провоспалительных цитокинов, а также преобладанием потребления кровяных пластинок над их выработкой у наиболее тяжелых пациентов. Обнаружена также слабая корреляционная связь между количеством тромбоцитов и тяжестью состояния (по шкале APACHE II) в первой подгруппе основной группы больных в конце срока наблюдений (табл. 5).

Таблица 4

Динамика количества тромбоцитов у больных на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 24)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
Тромбоциты, $*10^9$/ л	1	1505,77	94,00	428,97	23,74	442,36	25,18	391,94	56,55	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	3-5			428,20	28,37	462,48	30,50	319,09	59,28	< 0,02	< 0,001	< 0,02
	10			367,92	26,56	402,59	30,70	289,91	45,93	< 0,02	< 0,001	> 0,05
	$P_{1-(3-5)}$			>0,05		>0,05		>0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			>0,05		>0,05		>0,05				
	P_{1-10}			>0,05		>0,05		>0,05				

Связь числа тромбоцитов в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Таблица 5

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом (подгруппа 1)	Количество тромбоцитов, $*10^9$/л и SOFA, баллов	0,163 (P< 0,230)	0,212 (P< 0,063)	0,157 (P< 0,172)
	Количество тромбоцитов $*10^9$/л и APACHE II, баллов	0,092 (P <0,938)	0,139 (P< 0,224)	0,253 (P< 0,027)
С тяжелым сепсисом и ПОН (подгруппа 2)	Количество тромбоцитов, $*10^9$/л и SOFA, баллов	-0,110 (P <0,582)	0,246 (P< 0,214)	0,035 (P< 0,862)
	Количество тромбоцитов, $*10^9$/л и APACHE II, баллов	0,335 (P < 0,468)	0,129 (P< 0,282)	0,282 (P< 0,153)

Уровень второго субстрата свертывания – фибриногена - у обследованных больных также был значительно повышен в сравнении с контрольными результатами у практически здоровых людей (табл. 6). Значимой связи этого показателя с клиническим состоянием больных не найдено (табл. 7).

Таблица 6

Динамика концентрации фибриногена у больных на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 24)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m				± m			
Фибриноген, г/л	1	2,52	0,11	5,61	0,20	5,79	0,22	5,14	0,44	>0,05	<0,001	<0,001
	3-5			5,38	0,22	5,34	0,25	5,46	0,47	>0,05	<0,001	<0,001
	10			6,90	1,20	6,02	0,29	8,75	3,73	>0,05	<0,001	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$			>0,05		>0,05		>0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			>0,05		>0,05		>0,05				
	P_{1-10}			>0,05		>0,05		>0,05				

Таблица 7

Связь концентрации фибриногена в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом (подгруппа 1)	Фибриноген, г/л и S0FA, баллов	0,073 (P=0,523)	0,219 (P=0,054)	0,076 (P=0,506)
	Фибриноген г/л и APACHE II, баллов	0,085 (P=0,459)	0,196 (P=0,0850)	0,171 (P=0,137)
С тяжелым сепсисом и ПОН (подгруппа 2)	Фибриноген, г/л и SOFA, баллов	0,040 (P=0,841)	0,170 (P=0,393)	0,293 (P=0,136)
	Фибриноген г/л и APACHE II, баллов	-0,072 (P=0,717)	0,127 (P=0,526)	0,151 (P=0,450)

К числу классических свидетелей внутрисосу- дистого свертывания крови относят D-димеры количественное содержание которых в плазме крови отражает напряженность гемостатических процессов и проявляет не столько тромбинемию, сколько свершившийся факт фибринообразования, стабилизацию фибрина фактором XIIIa и его лизис/растворение плазмином и/или аналогичными по механизму действия трипсиноподобными протеазами лейкоцитов и бактериальных клеток [38]. У больных с ЭП в начальные сроки наших наблюдений повышение уровня этого показателя имело место у всех обследованных больных и превышало более чем в 20 раз контрольные значения (табл. 8). Это означало формирование генерализованной реакции системы кровообращения на, казалось бы, локальное инфекционное поражение плевры на фоне предпринятого лечения. Отметим, что сравнительно большая концентрация D-димеров крови определялась во второй подгруппе больных на 10-е сутки наблюдений, что свидетельствовало о более выраженном протеолизе у отмеченной группы пациентов, В целом же данный показатель динамически снижался в ходе лечения и вне зависимости от тяжести изучаемой патологии. Установлена статистически значимая связь между повышением уровня D-димеров и тяжестью состояния больных (по шкале APACHE II) в последней точке

Динамика уровня D-димеров у больных на разных сроках заболевания

Таблица 8

Показатели	Сроки ГОСПИ' тализации от начала болезни (сутки) и«р»	Контрольная группа (n = 24)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
D-димер, нг/мл	1	113,04	18,95	2480,79	171,24	2323,82	200,60	2997,88	298,64	>0,05	< 0,001	<0,001
	3-5			1932,01	141,13	1836,38	162,48	2285,11	268,91	>0,05	<0,001	<0,001
	10			1367,68	138,97	1237,47	159,13	1862,44	232,70	<0,02	<0,001	<0,001
	$P_{1-(3-5)}$			<0,02		>0,05		>0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			<0,01		<0,01		>0,05				
	P_{1-10}			<0,001		<0,001		<0,01				

Таблица 9

Связь уровня D-димеров в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	D-димер, нг/мл и SOFA, баллов	-0,010 (P=0,937)	-0,135 (P=0,358)	0,121 (P=0,469)
	D-димер, нг/мл и APACHE II, баллов	0,175 (P=0,195)	0,001 (P=0,992)	0,385 (P=0,016)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	D-димер, нг/мл и SOFA, баллов	0,229 (P=0,374)	0,456 (P=0,116)	-0,452 (P=0,260)
	D-димер, нг/мл и APACHE II, баллов	-0,237 (P=0,357)	0,296 (P=0,405)	0,494 (P=0,045)

Системе свертывания крови в физиологических условиях противодействуют система природных антикоагулянтов и фибринолитическая активность крови, баланс которых способствует сохранению жидкого состояния крови и предотвращает избыточное внутрисосудистое тромбообразование. Поэтому важно было проследить активность АТ III, которому отводится более 70% антикоагулянтного потенциала плазмы крови [17]. По результатам проведенных исследований установлено, что уровень этого антикоагулянта у больных с ЭП изначально снижался по сравнению со значениями нормы, но в последующем имел динамику роста в первой, клинически более благоприятной подгруппе больных (табл. 10). Закономерно было и то, что у больных с тяжелым сепсисом и ПОН восстановление активности АТ III к 10-м суткам было статистически значимо менее выраженным (на 8,8%; P < 0,02). Корреляционный анализ связи уровня данного антикоагулянта с тяжестью состояния больных выявил его соответствие числу баллов по шкале APACHE II (табл. 11).

Таблица 10

Динамика уровня D-димеров у больных на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 10)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
D-димер, нг/мл	1	99,36	1,78	91,74	1,47	92,76	1,58	88,34	3,68	>0,05	<0,01	<0,01
	3-5			95,10	1,35	96,01	1,47	91,22	3,46	>0,05	>0,05	<0,02
	10			100,16	1,30	101,26	1,34	92,45	3,49	<0,02	>0,05	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$			>0,05		>0,05		>0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			<0,01		<0,01		>0,05				
	P_{1-10}			<0,001		<0,001		>0,05				

Таблица 11

Связь активности антитромбина III в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	АТ III и SOFA, баллов	-0,267 (P=0,177)	0,308 (P=0,117)	-0,252 (P=0,203)
	АТ III и APACHE II, баллов	-0,110 (P=0,581)	0,030 (P=0,878)	-0,168 (P=0,399)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	АТ III и S0FA, баллов	0,185 (P=0,395)	-0,138 (P=0,583)	-0,405 (P=0,150)
	АТ III и APACHE II, баллов	-0,081 (P=0,710)	0,154 (P=0,541)	0,492 (P=0,037)

Как известно, фибринолитическая система также способна противостоять процессам свертывания крови, обеспечивая свободный ток крови. Ее функция заключается в непрерывной работе, направленной на очищение сосудистого русла от образующихся фибриновых сгустков. Плазмин - один из основных ферментов, растворяющих фибрин. Данная протеолитически активная сериновая протеаза формируется из плазминогена преимущественно под действием тканевого активатора плазминогена (t-PA). Ограничивает действие t-PA ингибитор тканевого активатора плазминогена (PAI-1), также вырабатывающийся эндотелием кровеносных сосудов, путем образования неактивных комплексов (t-PA/PAI-1). В работе проведено изучение динамики содержания этих основных участников системы фибринолиза.

При оценке концентрации плазминогена у больных ЭП установлено его стабильное повышение в сравнении контрольными значениями практически во всех изучаемых случаях в предпринятых точках наблюдений (табл. 12) Кроме того, имело место устойчивое снижение уровня этого профермента в динамике наблюдений у наиболее тяжелых больных. Закономерное снижение уровня плазминогена в подгруппе больных с тяжелым сепсисом и ПОН может расцениваться как косвенный признак продолжающегося фибринообразования, поскольку плазминоген имеет сродство к фибрину, а образование последнего снижает уровень циркулирующего в крови предшественника плазмина [2; 38]. Данное умозаключение иллюстрируется результатами корреляционного анализа, приведенного в таблице 13, согласно которому степень выраженности ПОН находилась в обратной зависимости от уровня плазминогена во второй подгруппе больных на 3-5-е и 10-е сутки исследований.

Таблица 12

Динамика концентрации плазминогена у больных на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки Госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 10)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
Ппазминоген, %	1	95,50	4,19	117,63	3,48	115,90	4,31	123,67	4,10	>0,05	< 0,001	<0,001
	3-5			113,98	4,45	112,39	3,61	123,12	4,15	<0,01	<0,01	<0,001
	10			121,21	5,81	125,20	6,91	106,25	5,66	<0,02	<0,001	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0.05		> 0,05		< 0,01				
	P_{1-10}			> 0,05		> 0,05		< 0,01				

Таблица 13

Связь уровня плазминогена в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	Плазминоген, % и S0FA, баллов	0,138 (P=0,745)	-0,244 (P=0,032)	0,126 (P=0,273)
	Плазминоген, % и APACHE II, баллов	0,151 (P=0,187)	0,058 (P=0,613)	0,148 (P=0,438)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	Плазминоген, % и S0FA, баллов	0,084 (P=0,675)	-0,605 (P=0,036)	-0,425 (P=0,027)
	Плазминоген, % и APACHE II, баллов	0,114 (P=0,560)	0,127 (P=0,526)	0,093 (P=0,642)

Уровень t-PA у больных на 1-е и 3-5-е сутки наблюдений оказался близким к нормальным значениям, однако, был зафиксирован его рост на конечной точке наших исследований в 1,88 раза (P < 0,001) по сравнению с первоначальным уровнем данного активатора плазминогена (табл. 14), В наибольшей степени эта закономерность проявила себя в первой подгруппе основной группы больных, хотя значимых корреляционных связей показателя с данными интегральных шкал мы не выявили (табл. 15).

Проблемы клинической медицины. № 1-4 (26-29) 2012 г.

Таблица 14

Динамика концентрации t-PA у больных на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 10)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
t-PA, нг мл	1	2,86	0,32	2,29	0,29	2,01	0,30	2,85	0,66	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	3-5			3,46	0,61	3,10	0,60	4,36	1,58	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	10			4,30	0,41	4,43	0,56	4,02	0,50	> 0,05	< 0,01	< 0,01
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			< 0,001		< 0,001		> 0,05				

Таблица 15

Связь содержания t-PA в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	t-PA и SOFA, баллов	0,295 (P=0,095)	0,134 (P=0,455)	0,138 (P=0,481)
	t-PA и APACHE II, баллов	0,238 (P=0,181)	-0,120 (P=0,502)	0,072 (P=0,724)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	t-PA и SOFA, баллов	0,401 (P=0,122)	-0,347 (P=0,294)	0,155 (P=0,612)
	t-PA и APACHE II, баллов	0,076 (P=0,777)	0,352 (P=0,288)	0,041 (P=0,892)

Принципиально иная динамика определена нами по активности PAI 1, являющегося антагонистом t-PA (табл. 16), Если у больных с сепсисом этот показатель был стабильным и практически не отличался от нормальных значений, то у пациентов с тяжелым сепсисом и ПОН он был существенно выше - в 2,25 раза на 3-5-е сутки наблюдений (P < 0,05).

Данные корреляционного анализа тем не менее не выявили статистически значимых связей (табл. 17).

Таблица 16

Динамика активности PAI 1 у больных на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и«р»	Контрольная группа (n = 10)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
PAI 1, ед/мл	1	3,40	0,69	4,64	0,96	3,59	0,87	6,81	2,30	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	3-5			4,59	0,83	3,40	0,60	7,64	1,98	> 0,05	> 0,05	< 0,05
	10			4,29	0,95	3,71	1,03	5,44	2,02	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			> 0,05		> 0,05		> 0,05				

Таблица 17

Связь активности PAI 1 в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	PAI 1 и SOFA, баллов	0,073 (P=0,722)	0,006 (P=0,971)	-0,328 (P=0,087)
	PAI 1 и APACHE II, баллов	-0,177 (P=0,384)	-0,064 (P=0,721)	0,049 (P=0,802)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	PAI 1 и SOFA, баллов	0,382 (P=0,144)	-0,004 (P=0,988)	0,115 (P=0,706)
	PAI 1 и APACHE II, баллов	0,266 (P=0,317)	-0,181 (P=0,594)	0,179 (P=0,557)

Таким образом, проведенные исследования фибринолитической системы указывали на ее непосредственное участие в регуляции гемостаза у больных. У наиболее тяжелых из них с тяжелым сепсисом и ПОН наблюдалась отрицательная динамика содержания плазминогена и заметное повышение ингибитора активации плазминогена в фибрин – PAI 1. Эти события свидетельствуют о потенциально низкой фибринолитической активности в группе больных с ПОН, что, впрочем, находится в противоречии с высоким уровнем D-димеров в плазме крови у таких больных (табл. 8).

Известно, что в обычных, физиологических условиях внутренняя поверхность кровеносных сосудов препятствует агрегации тромбоцитов, регулирует тонус сосудов и ингибирует свертывание крови, формируя так называемую тромборезистентность. При сепсисе же в силу ряда известных механизмов происходит повреждение и активация эндотелиальных клеток, развивается системный эндотелиоз. Фактор Виллебранда (ФВ) принадлежит к одним из наиболее важных маркеров повреждения эндотелия [3; 39].

В наших наблюдениях уровень ФВ у больных эмпиемой плевры был заметно повышен в начале предпринятых наблюдений и динамично снижался в ходе проводимой терапии. Причем определена статистически значимая разница по этому показателю (на 22,8%. P < 0,01) между подгруппами основной группы больных на 3-5-е сутки исследования (табл. 18). Именно на эти сроки наблюдений имелась и прямая корреляционная связь между концентрацией ФВ и выраженностью органной дисфункции (по шкале SOFA) как в первой, так и во второй подгруппе больных (табл. 19).

Таблица 18

Динамика содержания фактора Виллебранда у больных

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и	Контрольная группа (n = 18)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
Фактор Виллебранда, антиген, %	1	101,8	5,7	134,46	5,54	131,90	6,57	142,41	10,12	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	3-5			119,56	4,22	114,63	4,37	137,38	10,31	< 0,01	> 0,05	< 0,001
	10			110,77	2,98	110,98	3,63	110,00	4,26	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	$P_{1-(3-5)}$			< 0,02		< 0,02		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		< 0,01				
	P_{1-10}			< 0,001		< 0,01		< 0,01				

Таблица 19

Связь уровня фактора Виплебранда в плазме крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Бальные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	Виллебранда и S0FA, баллов	0,162 (P=0,243)	0.313 (P=0,031)	0,036 (P=0,829)
	Виллебранда и APACHE II, баллов	0,100 (P=0,474)	0,144 (P=0,168)	-0,110 (P=0,515)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	Виллебранда и S0FA, баллов	0,172 (P=0,388)	0,417 (P=0,030)	0,042 (P=0,831)
	Виллебранда и APACHE II, баллов	0,109 (P=0,587)	0,103 (P=0,608)	0,182 (P=0,362)

Второй известный маркер дисфункции эндотелия - эндотелин 1 - в плазме крови больных также был значительно повышен начиная с ранних сроков наблюдения и имел тенденцию к дальнейшему росту в случаях тяжелого сепсиса и ПОН (табл. 20). Однако и в этом случае статистически значимой связи его концентрации с показаниями интегральных шкал не найдено (табл. 21).

Динамика концентрации эндотелина-1 у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Таблица 20

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 18)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 72)		вторая (n = 21)		P_{1-2}	$P_{1-К}$	$P_{2-К}$
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
Эндотелии-1, фмоль/мл	1	0,34	0,08	2,34	0,40	2,16	0,44	2,86	0,93	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	3-5			2,57	0,44	2,34	0,46	3,26	1,08	> 0,05	< 0,001	< 0,01
	10			2,51	0,51	2,07	0,48	4,07	1,57	> 0,05	< 0,001	< 0,02
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			> 0,05		> 0,05		> 0,05				

Таблица 21

Связь уровня эндотелина 1 в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Группы больных	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	Эндстелин-1, фмоль/мл и S0FA, баллов	0,059 (P=0,648)	0,254 (P=0,058)	-0,182 (P=0,189)
	Эндотелин-1, фмоль/мл и APACHE II, баллов	0,070 (P=0,587)	-0,093 (P=0,493)	0,164 (P=0,242)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	Эндотелин-1, фмоль/мл и S0FA, баллов	-0,031 (P=0,891)	-0,277 (P=0,250)	-0,134 (P=0,632)
	Эндотелин-1, фмоль/мл и APACHE II, баллов	-0,373 (P=0,086)	-0,269 (P=0,265)	-0,076 (P=0,785)

В соответствии с данными литературы увеличение в крови содержания ФВ и эндотелина 1 происходит главным образом под действием на эндотелий кровеносных сосудов провоспалительных цитокинов - IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α, Кроме того, указанные цитокины обеспечивают экспрессию тканевого фактора, ингибируют фибринолиз и систему физиологических антикоагулянтов, способствуя тем самым возникновению тромботических осложнений [2; 3; 40; 41]. Мы посчитали важным проследить динамику содержания этих медиаторов воспаления у наших пациентов. Проведенные расчеты показали резкое повышение концентрации исследованных цитокинов в сравнении с уровнем их нормальных значений (табл. 22, 24, 26), В частности, концентрация IL-1 в 1-е сутки наблюдений превышала норму в 1,73 раза, IL-6 - в 7,48 раза и TNF-α - в 4,46 раза. Кроме того, отмечена тенденция к сравнительно большей концентрации IL-6 в подгруппе больных с тяжелым сепсисом и ПОН (табл. 24).

Таблица 22

Динамика концентрации эндотелина-1 у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 18)		Основная группа больных (n - 59)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 46)		вторая (n = 13)		P_{1-2}	$P_{1-К}$	$P_{2-К}$
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
IL-1, пг/мл	1	3,03	0,14	5,24	0,68	4,82	0,69	6,28	1,63	>0,05	<0,01	<0,01
	3-5			7,53	1,83	8,65	2,69	5,19	0,78	>0,05	<0,02	<0,001
	10			12,19	2,93	12,2	3,49	11,86	4,12	>0,05	<0,01	<0,02
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			< 0,02		< 0,02		> 0,05				

Таблица 23

Связь уровня IL-1 в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Группы больных	Показатели	Коэффициент корреляции (г)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом.	IL-1, пг/мл и SOFA, баллов	0,260 (P=0,136)	0,416 (P=0,027)	0,055 (P=0,782)
	IL-1, пг/мл и APACHE II, баллов	0,130 (P=0,460)	0,085 (P=0,739)	0,349 (P=0,080)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	IL-1, пг/мл и SOFA, баллов	0,187 (P=0,521)	0.030 (P=0,917)	0,021 (P=0,947)
	IL-1, пг/мл и APACHE II, баллов	0,261 (P=0,365)	0,248 (P=0,391)	0,230 (P=0,525)

В рамках предпринятых исследований уровень цитокинов имел склонность к росту в ходе заболевания и лечения, что было достоверно выражено в первой подгруппе основной группы больных по двум из трех исследованных цитокинов (IL-1 и TNF-α),

Анализ связи тяжести состояния больных с уровнем цитокинов выявил достаточно высокий коэффициент корреляции баллов по шкале SOFA с концентрацией IL-1 у больных с сепсисом на 3-5-е сутки наблюдений (табл. 23).

Таблица 24

Динамика концентрации IL-6 у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 18)		Основная группа больных (n = 59)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 46)		вторая (n = 13)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
IL-6, пг/мл	1	4,29	0,44	32,11	3,94	33,98	5,24	27,44	4,61	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	3-5			28,51	3,72	25,18	4,08	35,4	7,62	> 0,05	< 0,001	< 0,001
	10			24,52	3,05	20,86	3,77	33,08	4,34	< 0,01	< 0,001	< 0,001
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			> 0,05		> 0,05		> 0,05				

В то же время уровень IL-6 находился в обратной пропорции с тяжестью состояния больных (по шкале APACHE II) в 1-е сутки наблюдений у больных с тяжелым сепсисом и ПОН (табл. 25).

Таблица 25

Связь уровня IL-6 в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Группы больных	Показатели	Коэффициент корреляции (г)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	IL-6, пг/мл и SOFA, баллов	0,216 (P=0,192)	0,168 (P=0,313)	-0,072 (P=0,723)
	IL-6, пг/мл и APACHE II, баллов	0,123 (P=0 499)	0,017 (P=0,916)	-0,079 (P-0,644)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	IL-6, пг/мл и S0FA, баллов	0,506 (P-0,064)	0,107 (P=0,727)	0,085 (P=0,791)
	IL-6, пг/мл и APACHE II. баллов	-0,660 (P=0,010)	-0,108 (P=0,723)	0,452 (P=0,120)

Таблица 26

Динамика концентрации TNF-а у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 18)		Основная группа больных (n = 59)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 46)		вторая (n = 13)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
TNF-α	1	3,96	1,06	17,68	2,60	15,23	2,71	26,88	6,34	> 0,05	<0,001	<0,001
	3-5			18,14	2,43	19,94	3,35	14,55	2,83	> 0,05	<0,001	<0,001
	10			25,39	3,53	27,03	4,57	21,73	5,24	> 0,05	<0,001	<0,001
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			> 0,05		< 0,02		> 0,05				

В ходе дальнейшего анализа установлена прямая связь повышения TNF-а с выраженностью органной дисфункции при сепсисе на 3-5-е сутки наблюдений (табл. 27).

Связь уровня TNF-а в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Таблица 27

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	NF-α и SOFA, баллов	-0,118 (P=0,498)	0,418 (P=0,023)	-0,004 (P=0,981)
	TNF-α и APACHE II, баллов	0,028 (P=0,870)	0,211 (P=0 270)	0,194 (P=0,330)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	TNF-α и SOFA, баллов	0,271 (P=0 326)	0,126 (P=0,652)	0,128 (P=0,675)
	TNF-α и APACHE II, баллов	-0,054 (P=0,846)	-0,194 (P=0,487)	-0,441 (P=0,130)

Известно, что провоспалительные цитокины стимулируют гепатоциты, что приводит к увеличению концентрации в плазме крови белков острой фазы воспаления, а наиболее выраженным эффектом в этом отношении обладает IL-6 [3]. СРБ - классический острофазовый белок плазмы крови, который рассматривается как наиболее чувствительный лабораторный маркер инфекции, воспаления и повреждения тканей [42]. Это послужило основанием для оценки уровня СРБ в крови обследованных нами пациентов. Полученные данные приведены в таблице 28, откуда видно, что на всех этапах наблюдений концентрация этого белка резко повышена - в 10,8-14,2 раза - в сравнении с данными, полученными в контрольной группе практически здоровых людей. Кроме того, не наблюдалось достоверно выраженной динамики уровня СРБ на протяжении заболевания и проводимого лечения. Похожие данные были получены по уровню D-димеров в плазме крови пациентов, который значительно превышал значения нормы (табл. 28),

Таблица 28

Динамика СРБ у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатели	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Контрольная группа (n = 10)		Основная группа больных (n = 93)		Подгруппы основной группы больных						
						первая (n = 46)		вторая (n = 13)		P_{1-2}	P_{1-K}	P_{2-K}
		X	± m	X	± m	X	± m	X	± m			
СРБ	1	7,89	0,98	102,23	6,40	98,85	7,72	112,1	11,03	> 0,05	<0,001	<0,001
	3-5			89,53	5,99	87,29	6,33	96,56	11,34	> 0,05	< 0,001	<0,001
	10			86,53	5,37	85,29	5,64	90,25	13,53	> 0,05	<0,001	<0,001
	$P_{1-(3-5)}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	$P_{(3-5)-10}$			> 0,05		> 0,05		> 0,05				
	P_{1-10}			> 0,05		> 0,05		> 0,05				

Корреляционный анализ выявил интересную закономерность. согласно которой у больных эмпиемой плевры, протекающей с тяжелым сепсисом, на 3-5-е сутки наблюдений степень выраженности ПОН (по шкале SOFA) была обратно пропорциональна концентрации СРБ.

Таблица 29

Связь уровня СРБ в крови больных ЭП с тяжестью заболевания

Больные	Показатели	Коэффициент корреляции (r)		
		1-е сутки	3-5-е сутки	10-е сутки
С сепсисом	СРБ и SOFA,баллов	-0,055 (P=0,658)	0,093 (P=0,470)	-0,008 (P=0,949)
	СРБ и APACHE II, баллов	0,166 (P=0,182)	0,168 (P=0,208)	-0,080 (P=0,546)
С тяжелым сепсисом и септическим шоком	СРБ и SOFA, баллов	0,005 (P=0,998)	-0,574 (P=0,045)	-0,122 (P=0,608)
	СРБ и APACHE II, баллов	-0,341 (P=0,110)	-0,156 (P=0,476)	-0,058 (P=0,805)

Подводя итоги выполненной работы, можно отметить, что полного соответствия между показателями отобранных интегральных шкал, характеризующих клиническое состояние больных эмпиемой плевры, и теми или иными характеристиками крови найдено не было. Однако был установлен ряд закономерностей, связывающих динамику оцениваемых участников гемостатических реакций и воспаления с тяжестью заболевания и полиорганной недостаточностью. В частности, определено снижение способности плазмы пациентов к генерации тромбина, которое было наиболее выраженным у больных с сепсисом на 10-е сутки наблюдений. Тем не менее корреляционный анализ показал статистически значимую прямую связь между тяжестью состояния (по шкале APACHE II) и увеличением эндогенного тромбинового потенциала. Динамическое исследование содержания основных субстратов свертывания - тромбоцитов и фибриногена - показало их стабильное увеличение в сравнении с контрольными показателями, и лишь у больных с тяжелым сепсисом количество тромбоцитов снижалось на 3-10-е сутки наблюдений в сравнении с аналогичным показателем в менее тяжелой группе пациентов.

Большой интерес представляло сопоставление динамики содержания D-димеров и СРБ с тяжестью заболевания, поскольку каждый из этих показателей относится к числу интегральных маркеров - соответственно внутрисосудистого свертывания крови и воспалительной реакции в ответ на бактериальную агрессию [2; 6]. Полученные результаты свидетельствовали о крайне высокой концентрации этих маркеров уже на 1-е сутки наблюдений, которая лишь незначительно снижалась на протяжении исследований, причем это снижение четче всего определялось по уровню D-димеров в группе больных с сепсисом. Не была неожиданной и прямая связь тяжести состояния больных (по шкале APACHE II) с концентрацией D-димеров на 10-е сутки наших исследований, поскольку она отражала выраженность процессов фибринообразования и фибринолиза. Другой находкой была обратная зависимость между выраженностью ПОН (по шкале SOFA) и уровнем СРБ в подгруппе больных с тяжелым сепсисом.

Антикоагулянтное звено гемостаза было исследовано нами по активности АТ III, которая была снижена, по средним данным, у большинства больных по сравнению с контрольными значениями. Причем у больных с тяжелым сепсисом активность этого антикоагулянта была ниже, что соответствует ряду проведенных нами ранее исследований [18; 43]. Особое место в полученных результатах заняли особенности уровня плазминогена, свободно циркулирующего в плазме крови больных. Оказалось, что содержание этого предшественника плазмина на начальных сроках наблюдений было выше контрольных значений. В дальнейшем, по мере прогрессирования процесса и на фоне проводимой терапии, он повышался в группе больных с сепсисом, но, наоборот, снижался у пациентов с тяжелым сепсисом, связываясь с пристеночным фибрином. В подтверждение этого положения выявлена обратная корреляционная связь между уровнем плазминогена и выраженностью органной дисфункции (по шкале SOFA).

Для оценки способности активации плазминогена в плазмин и учета эффективности функционирования этой системы в целом большое значение имели определение особенностей динамики t-PA и PAI 1. Было установлено, что равновесие этих противостоящих друг другу компонентов системы фибринолиза изменялось и смещалось в пользу PAI 1, а следовательно, в сторону ингибирования фибринолитических реакций, более выраженного у больных с тяжелым сепсисом и ПОН.

У больных эмпиемой плевры определены признаки повреждения сосудистого эндотелия, проявившиеся в увеличении уровня маркеров эндотелиоза - эндотелина 1 и фактора Виллебранда. Концентрация последнего тем не менее была выше у больных с тяжелым сепсисом в сравнении с подгруппой с менее тяжелыми пациентами, что статистически значимо проявило себя на 3-5-е сутки наблюдений. Еще одной находкой явилась прямая связь выраженности ПОН (по шкале SOFA) с концентрацией фактора Виллебранда на 3-5-е сутки наблюдений.

Уровень цитокинов, традиционно рассматриваемых в качестве маркеров системной воспалительной реакции, также был значительно больше контрольных нормальных значений уже с 1-х суток наблюдений. В наибольшей степени это касалось IL-6, концентрация которого увеличивалась в среднем в 7,5 раза уже при поступлении больных в стационар. Содержание в плазме крови IL-1 и TNF-α в эти же сроки исследований было выше

нормальных значений соответственно в 1,7 и 4,5 раза. В дальнейшем, по мере прохождения лечения (между 1-м и 10-м днями наблюдений), в первой подгруппе основной группы больных зафиксировано статистически значимое нарастание концентрации как IL-1, так и TNF-α. Кроме того, обнаружена интересная закономерность, заключающаяся в прямой связи у больных с сепсисом степени выраженности органной дисфункции (по шкале SOFA) с уровнем этих цитокинов на 3-5-е сутки наблюдений.

Прослеженные в настоящей работе закономерности, отражающие реакции и взаимодействия двух важнейших систем, ответственных за защиту от внешней агрессии, - воспаления и гемостаза, можно отнести к общепатологическим реакциям организма человека. Нами предпринята попытка описать их на примере одного из видов тяжелой патологии - острой эмпиемы плевры. Продолжение работ в этом направлении видится в сравнительных исследованиях других видов инфекционного поражения легких для уточнения особенностей сопряжения гемостатических и воспалительных реакций, что может привести к лучшим дополнительным стратегиям управления лечебным процессом при критических состояниях.

Список литературы

1. Esmon, C. T. Inflammation, sepsis, and coagulation / C. T, Esmon, K. Fukudome, T. Mather et al. // Haemalologica. -1999. - Vol. 84. - P. 254-259.
2. Levi, M. The coagulant response in sepsis and inflammation/M. Levi//Hamostaseologie. -2010. -Vol. 30. - P. 10-16.
3. Кузник, Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б. И. Кузник. - Чита: Экспресс-издательство, 2010.-832 с.
4. Osterud, B. Induction of tissue factor expression in whole blood - lack of evidence for the presence of tissue factor expression on granulocytes / B. Osterud, L.V. Rao, J. 0. Olsen//Thromb Haemost. - 2000. - Vol. 83. - P. 861-867.
5. Баркаган, З. С. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах/ З. С. Баркаган, Я. Н. Шойхет // Гематология и трансфузиология. - 1989. - № 10. - С. 8-12.
6. Шойхет, Я. Н. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей/Я. Н. Шойхет, А. П. Момот//Проблемы клинической медицины. - 2008.-№4 (16).- С. 102-117.
7. McGilvray, I. D. Role of the coagulation system in the local and systemic inflammatory response /I. D. McGilvray, O. D. Rotstein // World J Surg. -1998,- Voi. 22. - P. 179-186.
8. Sun, H. Reduced thrombin generation increases host susceptibility to group A slreplococcal infection / H. Sun, X. Wang, J. L. Degen et al. // Blood. - 2009.-Vol. 113.-P. 1358-1364.
9. Levi, M. Coagulation abnormalities in critically ill patients/M. Levi, S. M. Opal // Crit Care.- 2006. - Vol. 10.-P. 222-225.
10. Semeraro, N. Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and thromboembolic disease / N. Semeraro, C. T. Ammollo, F. Semeraro et al. // Mediterr J Hematoi Infect Dis.- 2010. - Vol. 2, № 3.-P.e2010024.
11. Wheeler, A, P. Treating patients with severe sepsis / A. P. Wheeler, G. R. Bernard // N Engl J Med. 1999.-Vol. 340.-P. 207-214.
12. Levi, M. Sepsis and disseminated intravascular coagulation / M. Levi, E. de Jonge, T. van der Poll // J Thromb Thrombolysis. - 2003. - Vol. 16. - P 43-47.
13. Levi, M. Disseminated intravascular coagulation /M. Levi, C. H, Ten // N Engl J Med. -1999. - Vol. 341,-P. 586-592.
14. Marder V. J, Consumptive thrombohemorrhagic disorders/V. J. Marder, D. Feinstein, C. Francis// Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice / ed by R W Colman, J. Hirsh, V. J. Marder - Philadelphia: JB Lippincott Co, 2001,- P.1023-1063.
15. Voves, C. International Society on Thrombosis and Haemostasis score for overt disseminated intravascular coagulation predicts organ dysfunction and fatality in sepsis patients / C. Voves, W. A. Wuillemin, S. Zeerleder // Blood Coagul Fibrinolysis. - 2006, - Vol. 17. - P. 445-451.
16. Воробьев, А, И. Сепсис. Дискуссия за круглым столом/А. И. Воробьев//Терапевтический архив. - 1986. - № 3. - С. 109-123.
17. Баркаган, З. С. Гемостаз / З. С. Баркаган // Руководство по гематологии: в 3 т. / под ред. А. И. Воробьева. - 3-е изд.. перераб. и доп. - М.: Ньюдиамед. 2005. - Т. 3. - С. 9-147.
18. Баркаган, З. С. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома / З. С. Баркаган, А. П. Момот// Вестник гематологии - 2005.-Т. 1. - №2.-С. 5-14.
19 Лычев, В. Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / В. Г. Лычев. - 2-е изд. - М.: Медицинская книга; Н.Н.: Изд-во НМГА, 2001.- 192 с.
20. Levi, M. Disseminated intravascular coagulation / M. Levi // Crit Care Med. - 2007. - Vol. 35. - P. 2191-2195.
21. Dunn, A. L. Disseminated Intravascular Coagulopathy / A. L. Dinn // Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects / ed by C. D, Hiller, B. H. Shaz, J. C. Zimring, T. C. Abshire. - Academic Press, 2009. - P 589-593.
22. LaBelle, C. Disseminated Intravascular Coagulation / C. LaBelle, C. S. Kitchens // Consultative Hemostasis and Thrombosis / ed by C. S. Kitchens, B. M. Alving, C. M. Kessler. - Philadelphia: Elsevier, 2007. - P 183-209.
23. Чучалин, А.Г. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике/А. Г. Чучалин, А, И. Синопальников, Р. С. Козлов и др.-М.: МАКМАХ, 2010.-83 с.
24. Muller, B. Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community- acquired pneumonia / B. Muller. S. Harbarth, D. Stolz et al. // BMC Infect Dis. - 2007. - Vol. 7.-P. 10.
25. Шойхет, Я. Н. Лечение острой эмпиемы плевры / Я. Н. Шойхет, Е. А, Цеймах. - Барнаул, 1996.- С. 10-11.
26. Opal, S. M, Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis/S. M. Opal, C. T. Esmon// Crit Care.-2003.-Vol. 7.-P. 23-38.
27. Баркаган, З. С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома/ З. С. Баркаган // Materia Medica. -1997. - № 1. - С. 5-14.
28. Городецкий, В. М. Инфузионно-трансфузионная терапия / В. М, Городецкий, Г. М. Галстян, Е. М. Шулутко // Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2 т. / под ред. Б. Р. Гельфанда, А. И. Салтаиова. - М: ГЭО- ТАР-Медиа, 2011.-Т. 1.-С. 159-201.
29. American College of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definition lor sepsis and organ failure and guidelines for use of innovative therapies in sepsis // Cril. Care Med.- 1992.-Vol. 20.-P. 864-874.
30. Knaus, W. A. APACHE II: A severity of disease classification system /W. A. Knaus, E. A. Draper, D. P. Wagner et al. // Crit Care Med. 1985.-Vol. 13. - P. B18-829.
31. Левит. А. Л. Цкала оценки полиорганной дисфункции у хирургических больных/ А. Л. Левит, М. И. Прудков, О. В. Коркин и др // Анестезиология и реаниматология. - 2000. - №3,-С. 26-28.
32. Vincent, J. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction / faituro/ J. Vincent, R. Moreno, J. Takala et al, // Intens. Care Med. 1996. - Vol. 22, №7. -P 707-710.
33. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2008.- 292 с.
34. Bone, R. C. Definitions of sepsis and organ failure / R. C. Bone, C. Sprung, W. J. Sibbald // Crit. Care Med. 1992. - Vol. 20, - P 724-726.
35. Hemker, H. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma/ H. Hemker, P. Giesen. R. AL Dieri et al. // Haemost Thromb.-2003. - Vol. 33.-P 4-15.
36. Levi, M. The cytokine mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia / M. Levi, T. Poll,

H. Cate et al. // Eur, J Clin, Invest. -199/ - Vol.27.-P. 3-9.
37. Кречетова, А. В. Нарушение гемостаза при сепсисе у онкогематологических больных в период миелотоксического агранулоцитоза: автореф. дне.... канд. мед.наук/А. В. Кречетовэ.-Москва. 2011 -25 с
38. Момот, А. П. Управление гемостазом при критических состояниях. Аргументы за и против фармакологического подавления фибрино- пиза в профилактике и купировании массивных кровотечений/А. П. Момот, Я Н. Шойхет, И. В. Молчанова и др // Проблемы клинической медицины - 2011. - № 3-4 (25). - С. 98-104.
39. Петрищев, Н. Н Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Н. Н. Петрищев - СПб.: СПбГМУ. 2003.- 184 с.
40. Кузник, Б. И. Цитокины и система гемостаза. Сообщение 1. Цитакины и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз / 6. И, Кузник//Тромбоз, гемостаз и реология. - 2012 - № 2. - С 12-23.
41. Кузник, Б, И, Цигокины и система гемостаза Сообщение 2. Цитокины и коагуляционный гемостаз/Б. И. Кузник//Тромбоз, гемостаз и реологий. - 2012. - N? 3. - С, 9-29.
42. Pepys, M B Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein / M. B. Pepys. M. L. Baltz // Adv. Immunol. - 1983 - Vol. 34.-P. 141-212
43. Шойхет Я.Н. К оценке новой технологии негепаринавого усиления антикоагупянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемокомпонентной терапии ДВС-синдрома / Я. Н. Шойхег, А. П. Момот, В. А. Елыкомов// Тромбоз, гемостаз и реология. - Июнь 2009. - № 2(38) - С. 3-22.

Сведения об авторах

Шойхет Яков Наумович,
д. м. н. проф., чл.-корр. РАМН, заведующий кафедрой факультетской хирургии им И. И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС ГБОУ ВП0 «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России
656045, г Барнаул, Змеиногорский тракт д. 75
Тел./факс: (3852) 6В-50-23.
E-mail: starok100@mail.ru.

Момот Андрей Павлович,
д. м. н., профессор, директор Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России.
656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1
Тел./факс 8(3832) 639-800
E-mail: xyzan@yandex.ru.

Капитулин Станислав Юрьевич,
аспирант кафедры факультетской хирургии им. И. И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет" Минздравсоцразвития России.
656000, г. Барнаул, ул Ленина, 40
Тел.8-905-985-6949.
E-mail: stass0331429@mail.ru

Карбышев Илья Анатольевич,
заведующий отделом лабораторной диагностики КГБУЗ “Диагностический центр Алтайского края».
656038, г Барнаул, пр. Комсомольский, 75-г
Тел. 8 (3852) 261-528.
E-mail: ikar80@rambler.rL

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 616.37-006.04-06:616.361-002.1 +616.36-008.5]-07:616.151.4

Е.С. Казанцева[1], Я.Н. Шойхет[1], А.П. Момот[2], С.Д. Фокеев[1]

ОСОБЕННОСТИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И БЕЛОКСИНТЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ОСТРОГО ХОЛАНГИТА ОПУХОЛЕВОГО ГЕНЕЗА ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ

[1]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г. Барнаул;
[2]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 656045, г. Барнаул

Проведено изучение коагуляционных свойств и белковообразовательных функций крови у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, острым холангитом. Исследование проведено у 106 пациентов, кровь забирали при поступлении в клинику, а также на 3— 5-е и 7— 10-е сутки после оперативного лечения. Гемокоагуляционная активность изучалась по изменению активности факторов свертывания V и VII Белковообразовательная функция печени определялась также по активности факторов свертывания V, VII и основных физиологических антикоагулянтов — антитромбина III и протеина С. Ведущей причиной снижения свертываемости крови явилось нарушение синтеза витамин К-зависимых факторов (на примере фактора VII) при умеренных изменениях со стороны фактора V, антитромбина III и протеина С.

Ключевые слова: *гемостаз; рак поджелудочной железы; острый холангит, механическая желтуха.*

COAGULATION AND PROTEIN-SYNTHETIC FUNCTIONS FEATURES OF LIVER DURING FORMATION OF ACUTE CHOLANGITIS INDUCED BY TUMOR OF PANCREATICODUODENAL ZONE

E.S. Kazantseva[1], Yu.N.Shoikhet[1] , A.P.Momot [2], S.D. Fokeev [1]

[1] The Altai State Medical University, 656038, Barnaul, Russian Federation;
[2] Altai branch of Hematological Research Center", 656045, Barnaul, Russian Federation

The study of coagulation features and protein-synthetic function of blood in patients with cancer of pancreatoduodenal zone, complicated by mechanical jaundice and acute cholangitis was carried out. There are 106 patients included in this work, blood samples was taken at admission (day 1), 3-5 and 7-10 days after operation. Characteristic of hemocoagulation activity was studied by measuring the activity of coagulation factors V and VII. Protein-forming liver function was taken into account by measuring the activity of coagulation factors V and VII, as well as the main physiological anticoagulants — antithrombin III and protein C. The leading cause of blood coagulability reduction in examined patients was a disorder of the vitamin K— dependent factors synthesis (for example, factor VII) with the moderate changes of factor V, antithrombin III and protein C in the course of the disease.

Key words: *hemostasis; pancreatic cancer; acute cholangitis; mechanical jaundice.*

В последние десятилетия в экономически развитых странах отмечается рост частоты рака панкреатодуоденальной зоны, составивший в структуре злокачественных новообразований 7% [1, 2].

На 1-е место у больных со злокачественными новообразованиями панкреатодуоденальной зоны среди всех клинических признаков выходит механическая желтуха, которая встречается в 70— 80% случаев [3, 4]. Она значительно ухудшает состояние пациентов, повышает риск развития печеночной и почечной недостаточности, тромбогеморрагического синдрома и холемического кровотечения, холангиогенных абсцессов печени, билиарного сепсиса, а также ряда других осложнений [5].

Значимость проблемы особенно актуальна из-за увеличения числа лиц с острым холангитом, который присоединяется к механической желтухе в 84% случаев [3, 5, 6], а также количества больных пожилого и старческого возраста, среди которых летальность составляет 50—75% [5].Ранее выполненные исследования показали, что острый

Для корреспонденции: *Казанцева Елена Сергеевна* — аспирант каф. Факультетской хирургии с курсом хирургии ФПК и ППС им. И.И. Неймарка; 656000, г. Барнаул, ул. Ленина, 40, e-mail: ktyf1984@yandex.ru

холангит снижает функциональный резерв печени, а развивающийся при этом «цитологический синдром» приводит к распространенному некрозу печеночной паренхимы [3, 7, 8]. На этом фоне происходит недостаточное усвоение витамина К, проявляющееся нарушением синтеза К-зависимых про- и антикоагулянтов, и развитие интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений, связанных с нарушением гемокоагуляции [9—12].

Следовательно, больные раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой и гнойным холангитом, нуждаются во взвешенной и обоснованной предоперационной подготовке, включающей в себя профилактику в раннем послеоперационном периоде кровотечений и синдрома полиорганной недостаточности.

Цель работы — изучить особенности свертывания крови и белоксинтетической функции печени у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой.

Материал и методы

Проведено исследование системы гемостаза у 106 больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой (основная группа), находившихся на лечении в отделении хирургии КБУЗ «Городская больница № 5» Барнаула (клиническая база кафедры факультетской хирургии с курсом хирургии ФПК и ППС им. И.И. Неймарка, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»).

Возраст больных варьировал от 41 года до 86 лет, средний возраст составил 62,7 ± 4,7 года. Мужчин было 65 (61,3%), женщин —41 (38,7%). Основная группа разделена на 2 подгруппы: 1-я подгруппа — 68 больных с механической желтухой и 2-я — 38 больных, у которых механическая желтуха сочеталась с гнойным холангитом. При поступлении у всех обследованных пациентов была высокая концентрация билирубина, в среднем от 125,3 до 298,5 мкмоль/л.

Контрольную группу составил 31 практически здоровый пациент без клинических или инструментальных признаков каких-либо заболеваний, сопоставимый по полу и возрасту с обследованными пациентами.

У всех исследуемых больных для оценки системы гемостаза забиралась кровь из локтевой вены при поступлении, а также на 3—5-е и 7—10-е сутки после операции, у лиц контрольной группы - однократно. Определялись следующие параметры крови:

— активность факторов V и VII в плазме крови (Coagulation Factor V Deficient Plasma, Coagulation Factor VII Deficient Plasma, фирмы Siemens) с применением полуавтоматического коагулометра Start 4 (Stago);

— активность антитромбина III («ХромоТех-Антитромбин», фирмы «Технология-Стандарт») и протеина С в плазме крови (Berichrom Protein C, фирмы Siemens) с использованием автоматического коагулометра Sysmex CA-1500 (Sysmex Corporation);

Предоперационная подготовка включала: инфузионную терапия с целью коррекции водно-электролитных нарушений и детоксикации, антибактериальную терапию (парентеральное введение антибиотиков цефалоспоринового ряда, аминогликозидов, фторхинолонов и метронидазола в различных комбинациях), а также спазмолитическую терапию в соответствии с имеющимися рекомендациями.

Выполняли следующие виды операций — наложение холецисто- и гепатикоеюноанастомозов с межкишечным соустьем по Брауну и на отклоненной по Ру кишечной петле у 72 (67,9%) больных; гастропанкреатодуоденальную резекцию, наложение сквозного транспеченочного дренажа, наружное дренирование общего желчного протока по Керру, а также наложение холецистостомы у 34 (32,1%) пациентов.

Результаты и обсуждение

У больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, показатели активности V фактора до и после операции по сравнению с данными контрольной группы не имели статистически значимых различий (табл. 1). На 3—5-е сутки после операции активность V фактора по сравнению с исходными данными возросла на 14,63% ($p < 0,02$).

У пациентов с механической желтухой без признаков холангита показатели активности V фактора не отличались от контрольных данных.

Присоединение острого холангита сопровождалось снижением активности V фактора по сравнению с данными контрольной группы до операции на 23,45% ($p < 0,05$), после операции на 3—5-е сутки — на 17,63% ($p < 0,01$), на 7—10-е сутки — на 19,59% ($p < 0,01$).

В подгруппе больных с острым холангитом по сравнению с подгруппой пациентов, у которых острый холангит не отмечен, различия показателей активности V фактора были статистически значимы со снижением их в подгруппе с острым холангитом до операции на 20,62% ($p < 0,05$), после операции на 3—5-е сутки — на 26,16% ($p < 0,01$), на 7—10-е сутки — на 29,59% ($p < 0,01$).

При исследовании активности фактора VII у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, по сравнению с контрольными данными установлено (табл. 2), что до и после операции у пациентов она была снижена: до операции на 74,82% ($p < 0,001$), на 3—5-е сутки после операции на 55,18% ($p < 0,001$), на 7—10-е сутки на 60,3% ($p < 0,001$). В динамике у больных механической желтухой на 3—50-е сутки после операции активность фактора VII возросла на 19,64% ($p < 0,001$) и оставалась на этом уровне на 7—10-е сутки после операции, превышая к этому сроку уровень активности до операции на 14,52% ($p < 0,001$).

У больных механической желтухой без признаков острого холангита показатели активности VII фактора были меньше контрольных данных до операции на 66,97%) ($p < 0,001$), на 3—5-е сутки после операции на 51,22% ($p < 0,001$), на 7—10-е сутки - на 66,49% ($p < 0,001$). У этих больных активность фактора VII после операции вначале (на 3—5-е сутки) возросла на 15,75% ($p < 0,01$), а затем снизилась на 15,37% ($p < 0,01$).

У пациентов с острым холангитом показатели активности VII фактора до и после операции были ниже контрольных: до операции на 87,03% ($p < 0,001$), на 3—5-е сутки после операции на 64,67% ($p < 0,001$), а на 7—10-е сутки на 44,27%) ($p < 0,001$). В динамике в этой группе больных активность VII фактора постепенно статистически значимо повышалась с 13,44 до 35,80 и до 56,20% ($p < 0,01$).

В подгруппах больных в зависимости от наличия острого холангита взаимоотношения уровня активности VII фактора в разные сроки были противоположными. До операции и на 3—5-е сутки после операции при присоединении острого холангита активность VII фактора была ниже до операции на 22,06% ($p < 0,01$), на 3—5-е сутки после операции на 13,45% ($p < 0,02$), а на 7—10-е сутки после операции выше на 22,22% ($p < 0,01$).

Активность протеина С (в %) у пациентов раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической

Таблица 1

Динамика активности V фактора (в %) у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненым механической желтухой ($X \pm m$)

Срок исследования	Контрольная группа (к) (n = 31)	Основная группа (о) (n = 106)	Подгруппа основной группы					
			1-я (n=68)	2-я (n= 38)	$P_{к–о}$	$P_{1–2}$	$P_{1–к}$	$P_{2–к}$
При поступлении	101,63 ±5,46	90,08 ± 4,67	98,80 ± 5,37	78,18 ± 8,63	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
После операции: 3—5-е сутки		104,71 ± 3.51	110,16 ± 5,00	84,00 ± 2,59	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01
7—10-е сутки		99,62 ± 4,03	111,63 ± 4,96	82,04 ± 4,86	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01
$P_{1–(3–5)}$		<0,02	>0,05	> 0,05				
$P_{(3–5)–(7–10)}$		>0,05	>0,05	> 0,05				
$P_{1–(7–10)}$		>0,05	>0,05	> 0,05				

Таблица 2

Динамика активности VII фактора (в %) у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой ($X \pm m$)

Срок исследования	Контрольная группа (к) (n = 31)	Основная группа (о) (n = 106)	Подгруппа основной группы					
			1-я (n=68)	2-я (n= 38)	$P_{к–о}$	$P_{1–2}$	$P_{1–к}$	$P_{2–к}$
При поступлении	100,47 ±4,02	25,65 ± 3,12	33,50 ± 3,80	13,44 ± 4,93	< 0,001	< 0,01	< 0,001	< 0,001
После операции: 3—5-е сутки		45,29 ± 2,82	49,25 ± 3,77	35,80 ± 3,83	< 0,001	< 0,02	< 0,001	< 0,001
7—10-е сутки		40,17 ± 3,18	33,98 ± 5,37	56,20 ± 5,17	< 0,001	< 0,01	< 0,001	< 0,001
$P_{1–(3–5)}$		< 0,001	< 0,01	< 0,001				
$P_{(3–5)–(7–10)}$		> 0,05	< 0,02	< 0,01				
$P_{1–(7–10)}$		< 0,001	> 0,05	< 0,001				

Таблица 3

Динамика активности протеина С (в %) у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой ($X \pm m$)

Срок исследования	Контрольная группа (к) (n = 31)	Основная группа (о) (n = 106)	Подгруппа основной группы					
			1-я (n=68)	2-я (n= 38)	$P_{к–о}$	$P_{1–2}$	$P_{1–к}$	$P_{2–к}$
При поступлении	95,50 ± 4,20	108,15 ± 8,36	104,67 ± 10,61	118,60 ± 0,46	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
После операции: 3—5-е сутки		99,22 ± 6,01	102 ± 7,11	93,71 ±11,07	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
7—10-е сутки		106,13 ± 7,95	114,60 ± 9,11	89,2 ± 13,50	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
$P_{1–(3–5)}$		> 0,05	> 0,05	> 0,05				
$P_{(3–5)–(7–10)}$		> 0,05	> 0,05	> 0,05				
$P_{1–(7–10)}$		> 0,05	> 0,05	> 0,05				

Таблица 4

Динамика активности антитроибипа III (в %), у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой *($X \pm m$)*

Срок исследования	Контрольная группа (к) (n = 31)	Основная группа (о) (n = 106)	Подгруппа основной группы					
			1-я (n=68)	2-я (n= 38)	$P_{к–о}$	$P_{1–2}$	$P_{1–к}$	$P_{2–к}$
При поступлении	99,37 ± 1,78	113,10 ± 1,82	110,28 ± 2,58	118,11 ± 1,88	< 0,001	< 0,02	< 0,001	< 0,001
После операции: 3—5-е сутки		104,14 ± 1,89	104,66 ±1,89	103,22 ± 2,91	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
7—10-е сутки		102,50 ± 1,71	107,13 ± 2,07	94,32 ± 2,56	> 0,05	< 0,001	< 0,1	> 0,05
$P_{1–(3–5)}$		< 0,001	> 0,05	< 0,001				
$P_{(3–5)–(7–10)}$		> 0,05	> 0,05	< 0,05				
$P_{1–(7–10)}$		< 0,001	> 0,05	< 0,001				

желтухой независимо от наличия острого холангита до и после операции статистически была такой же, как в контрольной группе (табл. 3) Аналогичная ситуация имела место у больных механической желтухой без признаков острого холангита. У пациентов с механической желтухой и острым холангитом до операции активность протеина С была выше контрольных данных на 13,10% ($p < 0,05$). В динамике ни в целом в основной группе, ни в подгруппах больных не отмечено статистически значимых изменений активности протеина С.

Активность антнтромбина III у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, превышала контрольные данные на 13,63% ($p < 0,001$); (табл. 4). После операции она находилась на уровне контрольных показателей. В динамике после операции на 3—5-е сутки она уменьшилась на 8,96% ($p < 0,001$) и оставалась на таком уровне на 7—10-е сутки после операции.

У пациентов с механической желтухой без признаков острого холангита активность антитромбина III до операции была выше контрольных данных на 10,91% ($p < 0,001$) и оставалась повышенной на 7—10-е сутки после операции на 7,8% ($p < 0,01$). В динамике в этой подгруппе изменения уровня активности антитромбина III были статистически незначимы.

У больных с механической желтухой без признаков острого холангита до операции активность антитромбина III была выше контрольных данных на 18,74% ($p < 0,001$). В динамике активность антитромбина III в этой подгруппе на протяжении периода наблюдения постепенно уменьшалась: 118,11 — 103,22 — 94,32% ($p < 0,05$).

При сравнении показателей активности антитромбина III между подгруппами пациентов в зависимости от наличия острого холангита отмечено, что до операции его активность была выше на 7,83% ($p < 0,02$) при наличии острого холангита, на 3—5-е сутки после операции ее уровень в подгруппах был одинаковым, а на 7—10-е сутки после операции она стала ниже при остром холангите на 12,81% ($p < 0,001$).

Заключение

У обследованных больных продукция гепатоцитами фактора V и физиологических антикоагулянтов (антитромбина III и протеина С) сказывалась на образовании полноценного и активного фактора VII, синтез которого происходит при участии витамина К. Полученные данные имеют клиническое значение, поскольку расшифровка механизмов гипокоагуляции при раке панкреатодуоденальной зоны, осложненном острым холангитом, позволяет разрабатывать новые пути корригирующей терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Давыдов М. И., Аксель Е.М.* Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 г. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2009; 20 [3(77), прил. 1]: 158.
2. *Greenlee R. T., Hill-Harmon M. B., Murray T.* et al. Cancer statistics, 2001. Cancer J. Clin. 2001; 51(15): P. 36.
3. *Ветшев П. С., Стойко Ю. М., Левчук А. Л.* и др. Возможности современных методов диагностики и обоснование лечебной тактики при механической желтухе. Вестник хирургической гастроэнтерологии. 2008; 2: 24—32.
4. *Гальперин Э. И., Котовский А.Е., Момунова О. Н.* Оптимальный уровень общего билирубина перед выполнением окончательного этапа лечения при механической желтухе опухолевой этиологии. Анналы хирургической гепатологии. 2001, 16 (1): 45–51.
5. *Дусбоев А., Хайитов А.К* Особенности лечения острого холангита у пожилых детей. Анналы хирургической гепатологии. 2005; 10(2): 193–4.
6. *Меджидов Р.Т., Хамидов М.А., Алиев М.А.* и др. Хирургическая тактика при остром холангите. Анналы хирургической гепатологии.2003; 8(2): 321.
7. *Шойхет Я. Н. Момот А. П.* О роли взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей. Проблемы клинической медицины. 2008: 16(4): 102—17.
8. *Katsinelos P., Paroutogiou G.. Beltsis A.* ei al. Recurrcnt cholangitis as the first manifestation of an intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas. Rom. J. Gastroenterol 2005; 14: 169—72.
9. *Баркаган З.* С, *Момот А. П.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. 3-е изд. М.: Ньюдиамед. 2008.
10. *Долгов В. В.. Спирин П.В.* Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М.: Триада; 2005: 142—3.
11. *Момот А. П.* Патология гемостаза принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.; 2006.
12. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности: Монография. Момот А. П.. ЦывкинаЛ. П., Та- раненко И. А. и др. / Под науч. ред. А. П. Момота. Барнаул: издательство Алтайского государственного университета; 2011.

REFERENCES

1. *Davydov M.I. . Aksel E.M.* Statistics of malignant tumors in Russia and CIS countries in 2007 .Vestnik RONTS im. N. N. Blochina RAMN. 2009; 20[3 (77). suppl 1] (in Russian).
2. *Greenlee R.T., Hill-Harmon M.B.. Murray T.* et al. Cancer statistics. 2001 . Cancer J. Clin. 2001; 51(15): 36.
3. *Vetshev P.S., Stoyko Yu. M.. Levchuk A.L.* et al. The possibilities of modern diagnostics and justification methods of medcine tactical aspects at mechanical jaundice. Mess. of surg. gastroenterology. 2008; 2: 24—32 (in Russian).
4. *Galperin E.I., Kotovsky A.E., Momunova O.N.* The optimum level of the general bilirubin before final treatment stage performance at mechanical jaundice of tumor ethiology. Annals of surgical hepatology. 2011; 16(1): 45—51 (in Russian).
5. *Dusboyev A.. Hayitov A.K.* Features of acute cholangitis treatment at elderly patients. Annals of surgical hepatology. 2005; 10(2): 193—4(in Russian).
6. *Medzhidov R. T., Hamidov M.A., Aliev M.A.* et al. Surgical tactics at acute cholangitis. Annals of surgical hepatology. 2003: 8(2): 321 (in Russian).
7. *Shoykhet Ya.N., Momot A.P.* The role and interrelation of haemostatic and inflammatory reactions in purulent destruction centers of organs and tissues. Problems of clinical medicine. 2008; 16 (4): 102—17(in Russian).
8. *Katsinelos P., Paroutogiou G., Beltsis A.* et al. Recurrent cholangitis as the first manifestation of an intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas. Rom. J. Gastroenterol. 2005; 14: 169—72.
9. *Barkagan Z.S., Momot A.P.* Diagnostics and controlled therapy hemostasis violations. Edition 3rd. M.: Nevvdiamed; 2008 (in Russian).
10. *Dolgov V.V., Spirin P. V.* The laboratory diagnostics of hemostasis violations. M.: Triad, 2005: 142—3 (in Russian).
11. *Momot A.P.* Pathology of hemostasis principles and algorithms of clinico-laboratory diagnostics. SPb.; 2006 (in Russian).

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 616.24-002-06:616.94]-092:612.111.7]-07

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА И ПРОГНОЗ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У БОЛЬНЫХ ТЯЖЕЛОЙ ПНЕВМОНИЕЙ С ПНЕВМОГЕННЫМ СЕПСИСОМ

Мартыненко Т.И. [1,2]***, Момот А.П.***[3]***, Балацкая И.В.***[1]***, Шойхет Я.Н.***[1]***, Гребенюк А.А.***[2]***, Русакова О.В.***[2]***, Капитулин С.Ю.***[1]

[1]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038 Барнаул;
[2]КГБУЗ «Городская больница № 5 Барнаула», 656045 Барнаул; [3] Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 656045 Барнаул

Изучены особенности и степень выраженности процессов тромбинообразования у больных тяжелой пневмонией (ТП). В исследование включены 68 больных ТП, у которых проводили мониторинг тромбинового потенциала плазмы в тесте генерации тромбина в динамике заболевания. Отмечено снижение интенсивности образования тромбина у больных ТП, максимально выраженное у умерших больных по сравнению с выжившими на 3—5-е и 7—10-е сутки заболевания. Установлено статистически достоверное прогрессирующее снижение эндогенного тромбинового потенциала в течение первых 7—10 сут заболевания в группе больных ТП с летальным исходом, что позволяет использовать указанный тренд тромбинообразования в качестве предиктора неблагоприятного исхода ТП.

Ключевые слова: тяжелая пневмония; пневмогенный сепсис; тест генерации тромбина; эндогенный тромбиновый потенциал.

PECULIARITIES OF THROMBIN GENERATION AND PROGNOSIS OF UNFAVOURABLE OUTCOME IN PATIENTS WITH SEVERE PNEUMONIA AND PNEUMOGENIC SEPSIS

Martynenko T.I [1,2]*, Momot A.P.*[3]*, Balatskaya I.V.*[1]*, Shoikhet Yu.N.*[1]*, Grebenyuk A.A.*[2]*, Rusakova O. V.*[2]*, Kapitulin S. Yu.*[1]

[1]Altai State Medical University, Barnaul; [2]City Hospital № 5, Barnaul; [3]Altai Branch of Hematological Research Centre, Barnaul, Russia

The study of thrombin production included 68 patients with severe pneumonia (SP) undergoing monitoring plasma thrombin potential in the thrombin generation test. Thrombin production was found to decrease in the patients who died compared with those alive on days 3—5 and 7—10 after onset of the disease. Endogenous thrombin potential decreased progressively during the first 7—10 days among the patients with the fatal outcome of SP. This trend in thrombin generation can be used to predict the unfavourable outcome of SP.

Key words: severe pneumonia; pneumogenic sepsis; thrombin generation test; endogenous thrombin potential.

Системная активация свертывания крови и воспаление у больных в критическом состоянии, как известно, способствуют развитию тяжелого сепсиса, часто приводящего к неблагоприятному исходу [1, 2]. Пневмония является наиболее частой причиной развития терапевтического сепсиса и является одной из ведущих причин смерти среди инфекционных заболеваний [3]. В отделениях реанимации и интенсивной терапии летальность при тяжелой пневмонии (ТП) достигает 15—39% [4—6].

Активацию гемостатических реакций в легочных сосудах и тканях при ТП можно считать важным фактором ограничения инфекционного воспаления, делающим эти процессы необходимыми с точки зрения формирования барьера между здоровой и поврежденной тканью. Вызванная воспалением активация гемостаза играет важную роль в уменьшении риска генерализации инфекции и развития септических осложнений [7]. В то же время главной особенностью ТП является практически изначальное отсутствие локального ограничительного тканевого блока или его «прорыв», развитие «цитокинового взрыва», системного воспаления, нарушений гемостаза и дисфункции эндотелия [8].

Как показывает практика, широко используемые скрининговые методы оценки показателей свертывания крови (активированное частичное/парциальное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время свертывания плазмы крови) мало отражают реальную картину гемостаза у больных с сепсисом. По данным клинических наблюдений, при генерализованной инфекции лишь в 28% случаев происходит повышение этих коагулометрических показателей, что ставит под вопрос диагностическую значимость результатов таких исследований у больных с сепсисом [9, 10].

С учетом изложенного выше становится очевидной актуальность изучения альтернативных маркеров и сдвигов, отражающих напряженность гемостатических реакций при сепсисе. На сегодняшний день одним из таких методов глобальной оценки состояния гемостаза является высокостандартизованный тест генерации тромбина (ТГТ), который позволяет ex tempore оценить количество тромбина и скорость его образования в образце плазмы крови [11, 12]. Динамическая оценка генерации тромбина с помощью ТГТ дает возможность количественно оценить суммарный эффект взаимодействия всех активированных факторов системы свертывания крови и может служить интегральным показателем состояния гемостаза, характеризующим как динамику образования тромбина, так и баланс про- и антикоагулянтных механизмов [13, 14].

Целью настоящей работы явилось изучение динамики уровня тромбинового потенциала плазмы и определение его прогностической значимости у больных ТП с пневмогенным сепсисом.

Материал и методы

Проведено проспективное когортное контролируемое исследование. Основаниями для включения в него пациентов явились диагностированная ТП (в соответствии с Национальными клиническими рекомендациями [3]) и потребность в госпитализации в блок интенсивной пульмонологии и респираторной поддержки. Критериями исключения служили вирусная пневмония, рак, туберкулез, наличие иммунодефицита, ВИЧ-инфекция и летальный исход в течение суток после госпитализации.

Диагностика сепсиса и его вариантов осуществлялась в соответствии с критериями Согласительной конференции (American College of Chest Physicians and Society of Clinical Care Medicine ACCP/SCCM Consensus Conference) [15, 16].

Работа основывалась на результатах обследовании 68 больных, соответствующих критериям ТП и находившихся на лечении в Алтайском краевом пульмонологическом центре. Контрольную группу составили 26 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными.

С учетом исхода заболевания больные были разделены на 2 группы. Основная группа включала 58 (85,3%) выживших больных, группа сравнения — 10 (14,7%) умерших пациентов. Возраст больных варьировал от 18 до 83 лет (средний возраст 47,8 + 2,6 года); обследованы 41 (60,3%) мужчина и 27 (39,7%) женщин. Сопутствующие заболевания диагностированы у 46 (67,6%) больных ТП. Наиболее часто выявляли гипертоническую болезнь — у 19 (27,9%), хронический алкоголизм — у 15 (22,1%) и ишемическую болезнь сердца — у 9 (13,2%) больных ТП, реже — сахарный диабет — у 7 (10,3%) и хроническую обструктивную болезнь легких — У 3 (4,4%) пациентов. Полиморбидность имела место у 20 (29,4%) больных. Сепсис без полиорганной недостаточности (ПОН) выявлен у 4 (5,9%) больных, тяжелый сепсис (сепсис с ПОН) — у 64 (94,1%), из них у 17 (25%) — септический шок. Бактериемия выявлена в 7 (10,3%) случаях.

В зависимости от ведущего реанимационного синдрома, определены следующие клинические варианты тяжелой пневмонии: ТП + сепсис — у 4 (5,9%) больных, из них ТП + острая дыхательная недостаточность/ острый респираторный дистресс-синдром — у 3 (4,4%); ТП + тяжелый сепсис — у 64 (94,1%) больных, из них ТП + септический шок — у 17 (25%).

С позиции наличия маркеров ТП многодолевой характер поражения легочной ткани имелся у 61 (89,7%) больного, острая дыхательная недостаточность с частотой дыхательных движений более 30 в минуту и гипоксемией (pO_2 менее 60 мм рт. ст.) выявлена у 37 (54,4%) больных. Септический шок определен в 17 (25%) случаях. Анемия с показателем гемоглобина менее 100 г/л и/или гематокрита менее 30% определена более чем у трети больных, из них у 13 (19,1%) — лейкопения (лейкоциты < 4000 в 1 мл). Внелегочные критерии ТП и тяжелого пневмогенного сепсиса в рамках синдрома ПОН в виде церебральных нарушений имелись у 32 (47,1%) больных и почечной дисфункции — у 35 (51,5%) больных, а у 8 (11,9%) больных уровень креатинина в крови был выше 176,7 мкмоль/л.

Как известно, многодолевой характер воспаления, выявленный у 89,7% больных, является наиболее чувствительным критерием ТП. У 52 (76,5%) больных пневмония была двусторонней, причем у 13 (19,1%) четырехдолевой, а у 10 (14,7%) — пятидолевой, или тотальной двусторонней [17].

У 64 (94,1%) больных по шкале оценки органной дисфункции SOFA [18] в патологический процесс вовлечены 2 системы и более. Из них треть больных имели ПОН по трем системам, а у 12 (17,6%) и 5 (7,3%) выявлены дисфункции по 5 и 6 системам, соответственно. При оценке состояния больных ТП по валидизированной шкале оценки тяжести и прогноза APACHE II [19] установлено, что 38 (55,9%) пациентов имели оценку 14 баллов и менее, 16 (23,5%) — от 15 до 19 баллов, у 8 (11,8%) тяжесть состояния соответствовала 20—24 баллам, у 6 (8,8%) была более 25 баллов. Среди 10 (14,7%) умерших пациентов 6 (60%) имели оценку по шкале APACHE II 20—24 балла, что определило летальность в данной страте 75%. Более 25 баллов было у 3 (30%) умерших, и летальность у этой категории больных ТП составила 50%. Кроме того, 1 (10%) умерший пациент имел по шкале APACHE II в 1-е сутки госпитализации 19 баллов, с показателем летальности при данной степени тяжести 6,3%.

В целях тромбопрофилактики в процессе лечения использовали нефракционированный гепарин, который получали все больные ТП, включенные в исследование, в соответствии с международными стандартами по ведению больных с сепсисом [20].

Исследование способности плазмы крови к генерации тромбина проведено у больных ТП в динамике: при поступлении (точка наблюдения 1), на 3—5-е сутки (точка наблюдения 2) и на 7—10-е (точка наблюдения 3) сутки госпитализации в Алтайский краевой пульмонологический центр.

ТГТ выполняли на планшетном флюорометре Fluoroskan Ascent (ThermoFisher SCIENTIFIC, Финляндия), оснащенный диспенсером, с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Учитывали следующие показатели: *время запаздывания* (мин), характеризующее время до начала образования тромбина; *пик тромбина* (нмоль/л) — максимальная концентрация тромбина в единицу времени; *время достижения пика тромбина* (мин) — время, за которое достигается максимальная концентрация тромбина; *эндогенный тромбиновый потенциал* (нмоль × мин) — площадь под кривой генерации тромбина, являющийся результирующим показателем скорости образования и интенсивности инактивации тромбина; *время инактивации тромбина* (мин) — время, за которое происходит полная инактивация тромбина системой физиологических антикоагулянтов. Показатели этого теста в группе практически здоровых людей приведены на рис. 1.

Статистическая обработка полученных данных осуществлена с использованием программ Microsoft Offis Exel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc 12.2.1. Статистическую значимость различий средних величин определяли с помощью критерия Стьюдента (t); различия считали достоверными при $p < 0,05$. В качестве меры влияния предикторов рассчитывали отношение шансов (ОШ). Для характеристики точности полученных значений определяли 95% доверительный интервал. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Учет и сравнение полученных данных в ТГТ проводили по динамическому изменению показателей в плазме крови у выживших и умерших больных ТП.

Первая компонента ТГТ — время запаздывания, демонстрировала статистически значимое повышение показателя в основной группе больных в сравнении с контрольной группой (у практически здоровых людей).

В частности, время до начала образования тромбина было более продолжительным в точках 1 и 2 наблюдения в 1,5 раза, а в точке 3 — в 1,3 раза (табл. 1). В группе сравнения (у умерших больных) этот показатель статистически значимо не отличался от показателей в контрольной группе, однако был ниже, чем в основной группе, в 1,4 раза.

Вторая компонента ТГТ — время достижения пика тромбина, также демонстрировала повышение показателя у выживших больных ТП, по сравнению с контрольной группой; при этом в группе сравнения показатель не отличался от контрольных значений. В основной группе он был статистически значимо в 1,3 раза выше во всех точках наблюдения по сравнению с таковым в группе сравнения и в контрольной группе (табл. 2).

Величина третьей компоненты ТГТ – пик тромбина, в основной группе не отличалась от показателей в контрольной группе на всех этапах исследований (табл. 3), однако в группе сравнения этот показатель был снижен в точке 2 в 1,5 раза, а в точке 3 в 2,3 раза, по сравнению с показателями в основной и контрольной группах.

Прогрессирующее статистически достоверное снижение концентрации тромбина на 3—5-е и на 7—10-е сутки по сравнению с исходными данными отмечено только в группе сравнения, что может рассматриваться как предиктор неблагоприятного исхода.

Четвертая компонента ТГТ — эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТП) — была статистически достоверно снижена у всех больных ТП в точках 1 и 2 наблюдения по сравнению с показателями в контрольной группе (табл. 4). При этом в основной группе больных определено снижение показателя ЭТП в точке 1 в 1,5 раза, а в точке 2 — в 1,6 раза. Однако в точке 3 интегральный показатель концентрации и скорости образования тромбина, отражающий площадь под кривой формирования тромбина, у выживших больных возрастал и достигал значения в контрольной группе. В отличие от этого в группе сравнения этот показатель имел прямо противоположную динамику: в точке 1 снижен в 1,8 раза, в точке 2 в 2,6 раза и в точке 3 в 2,9 раза по сравнению с показателями в контрольной группе.

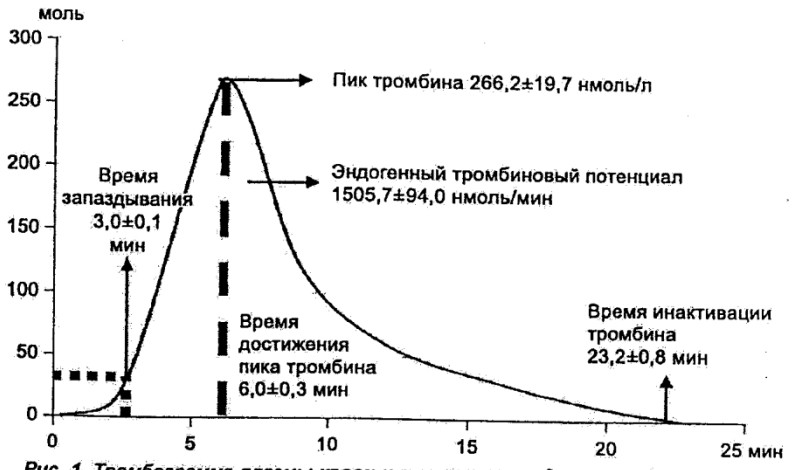


Рис. 1. Тромбограмма плазмы крови у практически здоровых обследованных контрольной группы

Таблица 1. ***Динамика времени запаздывания в мин (X ± m)***

Точка наблюдения	Контрольная группа (к)	Основная группа (о)	Группа сравнения (с)	$P_{о\text{-}к<}$	$P_{с\text{-}к>}$	$P_{о\text{-}с}$
1	3,0 ±0,1	4,4+ 0,4	3,7 ±0,6	< 0,01	> 0,05	>0,05
2		4,5+ 0,5	3,2 ±0,1	< 0,01	> 0,05	< 0,05
3		3,9 ±0,4	3,6 ±0,7	< 0,05	> 0,05	> 0,05
$P_{2\text{-}1}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
$P_{3\text{-}2}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
$P_{3\text{-}1}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—

Примечание. Здесь и в табл. 2–5: $P_{о\text{-}к}$ –статистическая значимость различий между основной группой и группой контроля
$P_{с\text{-}к}$ – статистическая значимость различий между группой сравнения и контролем
$P_{о\text{-}с}$ – статистическая значимость различий между основной группой и группой сравнения
$P_{2\text{-}1}$, $P_{3\text{-}2}$, $P_{3\text{-}1}$ – статистическая значимость различий между точками исследования

Таблица 2. ***Динамика времени достижения пика тромбина, мин*** **(X ± m)**

Точка наблюдения	Контрольная группа (к)	Основная группа (о)	Группа сравнения (с)	$P_{о\text{-}к<}$	$P_{с\text{-}к>}$	$P_{о\text{-}с}$
1	6,0 ±0,3	8,3 ±0,9	6,6 ±0,6	< 0,05	> 0,05	> 0,05
2		7,9 ±0,8	5,7 ±0,3	< 0,05	> 0,05	< 0,05
3		8,3 ± 1,0	6,1 ± 1,1	< 0,001	> 0,05	> 0,05
$P_{2\text{-}1}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
$P_{3\text{-}2}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
$P_{3\text{-}1}$	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—

Таблица 3. ***Динамика пика тромбина, нмоль/л (X±m)***

Точка наблюдения	Контрольная группа (к)	Основная группа (о)	Группа сравнения (с)			
1	266,2 ±19,7	235,5 ± 16,4	263,9 ±30,1	> 0,05	> 0,05	> 0,05
2		261,0 ±26,2	178,7 ±27,3	> 0,05	< 0,01	< 0,01
3		241,9 ±26,1	117,1 ± 18,0	> 0,05	< 0,01	< 0,01
P_{2-1}	—	> 0,05	< 0,01	—	—	—
P_{3-2}	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
P_{3-1}	—	> 0,05	< 0,01	—	—	—

Таблица 4. ***Динамика ЭТП, нмоль/мин (X±m)***

Точка наблюдения	Контрольная группа (к)	Основная группа (о)	Группа сравнения (с)			
1	1505,7 ± 94,0	984,2 ± 95,5	838,0 ± 86,7	< 0,01	< 0,01	> 0,05
2		966,7 ± 73,1	569,8 ±78,8	< 0,01	< 0,01	< 0,01
3		1336,4 ± 116,5	525,0 ±71,9	> 0,05	< 0,01	< 0,01
P_{2-1}	—	> 0,05	< 0,05	—	—	—
P_{3-2}	—	< 0,05	> 0,05	—	—	—
P_{3-1}	—	< 0,05	< 0,05	—	—	—

Таблица 5. ***Динамика времени инактивации тромбина, мин в ТГТ (X±m)***

Точка наблюдения	Контрольная группа (к)	Основная группа (о)	Группа сравнения (с)			
1	23,2 ± 0,8	19,4 ± 0,7	19,8 ± 2,4	< 0,01	> 0,01	> 0,05
2		17,4 ± 0,5	16,8 ± 0,9	< 0,01	> 0,01	> 0,05
3		16,9 ± 0,7	17,3 ± 0,2	< 0,01	> 0,01	> 0,05
P_{2-1}	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
P_{3-2}	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—
P_{3-1}	—	> 0,05	> 0,05	—	—	—

Если в основной группе к 7—10-м суткам генерация тромбина возрастала и была сравнимой с показателями у практически здоровых людей, то в группе сравнения отмечена противоположная динамика: прогрессирующее статистически значимое снижение ЭТП на 3–5-е и 7—10-е сутки по сравнению с 1-ми сутками.

Оценка пятой компоненты ТГТ — время инактивации тромбина — выявила ее уменьшение по сравнению с показателями в контрольной группе без достоверных различий в сравниваемых группах (табл. 5). В частности, время инактивации тромбина было меньше в основной группе в точке 1 в 1,2 раза, в точке 2 в 1,3 раза и в точке 3 в 1,4 раза. В группе сравнения (у умерших пациентов) этот показатель был меньше такового в контрольной группе в точке 1 в 1,2 раза, в точке 2 в 1,4 раза, в точке 3 в 1,3 раза и не отличался от показателей в основной группе.

В динамике в течение 7—10 сут скорость инактивации тромбина при ТП не изменялась в обеих группах. В соответствии с полученными данными, можно предположить, что процесс тромбинообразования у больных ТП снижен по сравнению с показателями в контрольной группе. Анализируя тренд всех показателей ТГТ на протяжении 7–10 сут исследования, следует подчеркнуть, что скоростные показатели (время запаздывания, время достижения пика тромбина и время инактивации тромбина)у больных ТП оставались практически на одном уровне (различая статистически незначимы). При этом концентрационные показатели ТГТ (пик тромбина и эндогенный тромбиновый потенциал)статистически значимо снижались на 3–5 и 7–10 сутки в группе сравнения в отличие от показателей в основной группе. Соответствующее графическое отображение полученных результатов приведено на рис. 2.

С учетом данных нашего исследования при ТП с пневмогенным сепсисом отмечается статистически значимое уменьшение количества образующегося тромбина как в единицу времени, так и в целом за весь временной интервал «жизненного цикла» этого ключевого фермента гемостаза, причем в большей степени у больных с неблагоприятным исходом. В динамике в течение 7—10 сут отмечается статистически значимое уменьшение как высоты графика ТГТ, так и площади под кривой.

При оценке влияния показателей ТГТ на исход ТП с помощью расчета ОШ получены следующие результаты. Наиболее значимым фактором неблагоприятного исхода явилось прогрессирующее снижение показате-ля пика тромбина менее 178,7 нмоль/л на 3—5-е сутки госпитализации (ОШ 4,0; p = 0,083) и менее 117,7 нмоль/л на 7—10-е сутки госпитализации (ОШ 9,3; p = 0,033), снижение ЭТП менее 525 нмоль/мин на 7—10-е сутки госпитализации (ОШ 21,7; p = 0,002).

В литературе имеется крайне мало информации по исследованиям ТГТ при сепсисе и в процессе развития ДВС-синдрома. По данным P. Collins и соавт. [2], у всех выживших больных с сепсисом (с тяжестью состояния по шкале APACHE II 20,6 + 6,6 балла) в течение первых 7 сут от начала заболевания определялось повышение генерации тромбина, в то время как у умерших это отмечалось лишь в течение нескольких первых суток. Согласно этому исследованию, у 38 больных с тяжелым сепсисом по данным ТГТ определялось повышение временных показателей генерации тромбина — времени запаздывания и времени достижения пика тромбина, что совпадает с полученными данными в части замедления процесса образования тромбина у выживших больных ТП. В отличие от данных зарубежных исследователей, в нашей работе зарегистрировано снижение интегрального показателя ЭТП у всех больных ТП, но прогрессирующее в динамике снижение концентрационных показателей (ЭТП и пик тромбина) наблюдалось лишь в группе сравнения.

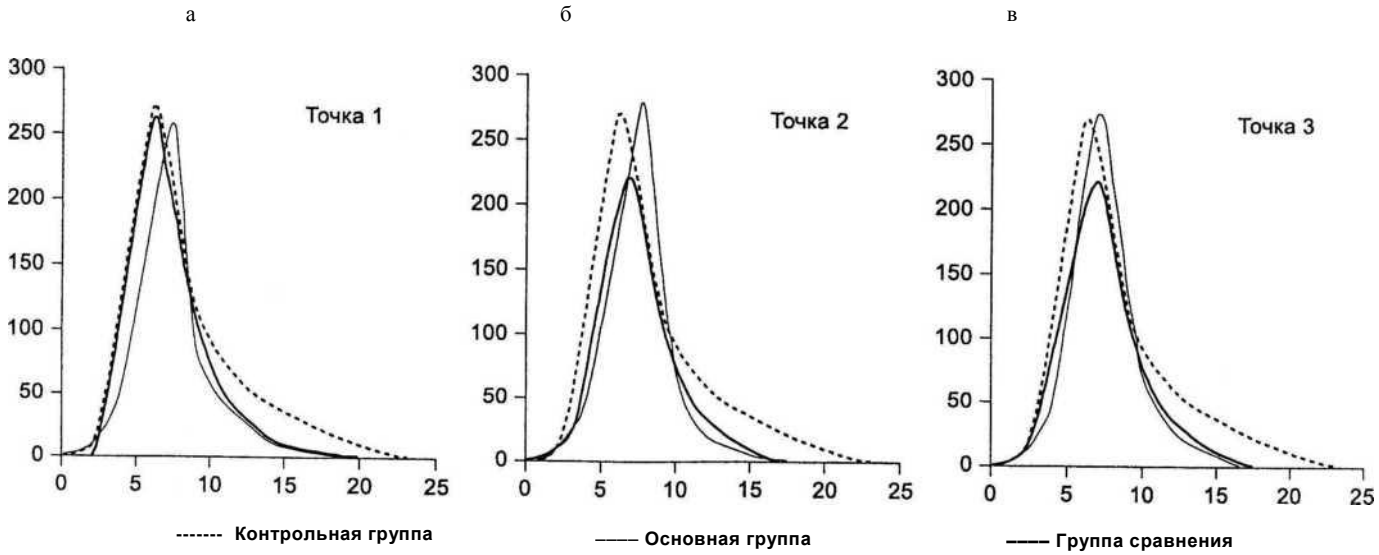


Рис. 2. Кривые ТГТ у больных ТП в 1-е (а), 3-и (б) и 7—10-е (в) сутки исследования.

По данным А.В. Кречетовой [9], повышенный показатель ЭТП регистрировался у 53% онкогематологических больных в период миелотоксического агранулоцитоза с сепсисом и септическим шоком. J. Seo и соавт. [21] показали, что генерация тромбина сохраняется в пределах нормальных величин у всех больных с сепсисом и снижена лишь при тромбоцитопении.

Предполагается, что снижение эндогенного тромбинового потенциала наиболее явно проявляет себя при развитии септического ДВС-синдрома [9, 21, 22]. Таким образом, очевидно, что динамика показателей ТГТ имеет свои типовые особенности при разных видах органной патологии, протекающей с тяжелым сепсисом и септическим шоком, а учет результатов ТГТ имеет прогностическое значение при ТП.

Заключение

Обнаружена связь между течением и исходом тяжелой пневмонии и параметрами теста генерации тромбина. В частности, у больных с неблагоприятным исходом отмечено более заметное подавление процессов тромбинообразования по данным измерения генерации тромбина. Мы полагаем, что эта взаимосвязь имеет немаловажное значение для понимания патогенеза пневмогенного сепсиса и клинического прогноза при тяжелой пневмонии.

Полученные результаты являются предпосылкой для дальнейшего изучения проблемы и, возможно, модернизации протокола диагностики, мониторинга, лечения, прогнозирования течения и исхода больных тяжелой пневмонией с пневмогенным сепсисом.

Сведения об авторах:
Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул
Мартыненко Татьяна Ивановна — д-р мед. наук, проф., зав. отд. пульмонологии № 1 «Городская больница № 5 г. Барнаул» проф. каф. терапии и семейной медицины ФПК и ППС; e-mail: rtppul@ab.ru
Балацкая Ирина Васильевна — аспирант каф. факультетской хирургии им. И.И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС- e-mail: balatskaya-i@mail.ru
Шойхет Яков Наумович — д-р мед. наук, проф. член.-корр. РАМН, зав. каф. факультетской хирургии им. И.И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС; e-mail: starok.100@mail.ru
Капитулин Станислав Юрьевич — аспирант каф. факультетской хирургии им. И.И. Неймарка с курсом хирургии ФПК и ППС- e-mail: stass0331429@mail.ru
Гематологический научный центр, Барнаул
Момот Андрей Павлович д-р мед. наук, проф., директор Алтайского филиала; e-mail: xyzan@yandex.ru
Городская больница № 5, Барнаул
Гребенюк Анастасия Анатольевна — врач пульмонологического отделения № 1.
Русакова Ольга Валерьевна врач пульмонологического отделения № 1; e-mail: poppyhonney@yandex.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Levi M., Opal S.M. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit. Care.* 2006; 10 (4): 222.
2. Collins P.W., Macchiavello L.I., Lewis S.J. et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br. J. Haematol.* 2006; 135: 220—7.
3. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С. и др., ред. *Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике.* М.: МАКМАХ; 2010.
4. Watkins R.R., Lemonovich T.L. Diagnosis and management of community-acquired pneumonia in adult. *American Family Physician* 2011; 11: 1299—1306.

СЕПСИС. СВЯЗЬ РЕАКЦИЙ ГЕМОСТАЗА И ВОСПАЛЕНИЯ В ИНТРА- И ПЕРИВАСКУЛЯРНОМ ПРОСТРАНСТВЕ

УДК 616.25-002.3-072-089

Я. Н. Шойхет[1], А. П. Момот[1,2], Т. И. Мартыненко[3], С. Ю. Капитулин[1], И. В. Балацкая[1], Е. С. Казанцева[1], И. А. Карбышев[4]

[1]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул
[2]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул
[3]КГБУЗ «Городская больница N 5», г. Барнаул
[4]КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края», г. Барнаул

В настоящей работе продолжен цикл публикаций, посвященных анализу гемостатических и воспалительных реакций, проявлений эндотелиопатии, а также их сопряжению у больных с сепсисом и тяжелым сепсисом. Проведено динамическое обследование 267 больных эмпиемой плевры, пациентов с механической желтухой при раке панкреатодуоденальной зоны и тяжелой пневмонией. Изучена связь выявленных нарушений с тяжестью течения заболевания (по данным интегральных шкал APACHE II и SOFA), а также их прогностическое значение. В работе описан феномен резкого снижения интенсивности генерации тромбина в группе наиболее тяжелых больных с полиорганной недостаточностью, сочетающийся с высоким уровнем D-димеров.
Исследования в этом направлении призваны улучшить результаты лечения больных при критических состояниях.

Ключевые слова: сепсис, гемостаз, воспаление, эндотелий кровеносных сосудов, генерация тромбина

In the present paper we continue the series of articles devoted to the analysis of hemostatic and inflammatory reactions, endotheliopathy manifestations and their conjugation in patients with sepsis and severe sepsis. A dynamic survey of 267 patients with pleural empyema, patients with obstructive jaundice in cancer of pancreatoduodenal zone and severe pneumonia was performed. The relationship between the identified disorders with the severity of the disease was studied (according to the integral scales APACHE II and SOFA), as well as their prognostic significance. In this paper we described the phenomenon of a sharp decline in the intensity of thrombin generation in the group
of the most severely ill patients with multiple organ failure, combined with the high levels of D-dimers. Studies in this area are intended to improve the results of treatment of patients in critical state.

Keywords: sepsis, hemostasis, inflammation, vascular endothelium, thrombin generation

В ранее опубликованных работах мы останавливались на изложении собственных данных и материалов наших коллег по особенностям изменений в системе гемостаза при острой массивной инфекции, сепсисе, включающих описание как проявлений системной воспалительной реакции, так и активации свертывания крови и их взаимосвязи, потребления естественных антикоагулянтов и подавления фибринолитических реакций [1-7]. Они во многом согласуются с современными представлениями об этих сложных взаимоотношениях двух важнейших систем при патологии человека [8; 9].

Несмотря на последние достижения в области биомедицинских исследований, сепсис остается важной медицинской проблемой. По оценкам, 750 000 случаев тяжелого сепсиса диагностируется каждый год в одних только США, при этом расходы на здравоохранение составляют 16,7 млрд. долларов ежегодно [10]. Одной из главных ошибок лечения при сепсисе является применение подходов, направленных на один конкретный путь, компонент или цитокин, участвующий в реакции организма хозяина, однако ведущая реакция при сепсисе координируется между несколькими путями, включая воспаление, коагуляцию, метаболизм веществ и тканевую гипоксию. Важной задачей при изучении сепсиса является разработка более детального понимания механизмов, лежащих в основе ведущей реакции на инфекцию, в надежде, что такие исследования принесут новые идеи в потенциальных диагностических и терапевтических подходах.

Существует все больше и больше доказательств того, что эндотелий играет центральную роль в патогенезе сепсиса. Эндотелиальные клетки отличаются по своим функциям и реактивности. При воздействии определенных агонистов, таких как эндотоксин, провоспалительные цитокины, хемокины и факторы роста, эндотелиальные клетки активизируются. Состояние активации проявляется повышенной проницаемостью сосудистой стенки, повышенной адгезией лейкоцитов, сдвигом в гемостатическом балансе в сторону активации свертывания крови и изменением регуляции тонуса кровеносных

Все эти изменения, вероятно, развивались как ведущая адаптационная реакцияна инфекцию, позволяющая сосудов. увеличить приток крови к зоне повреждения. В целом же, как отмечалось нами ранее, общая направленность реакций эндотелиоцитов в ответ на агрессивное воздействие цитокинов и липополисахаридов носит явно тромбогенный характер, благодаря чему создаются благоприятные условия для формирования **интраваскулярного тромбоцитарно-фибринового блока** и миграции жидкой и клеточной составляющих крови в перивазальное пространство [2; 3].

Как отмечалось в приведенных выше работах, в процессе воспаления проницаемость стенок кровеносных сосудов значительно увеличивается. Помимо трансэндотелиальной миграции клеток крови с отечной жидкостью в зону тканевого повреждения поступают ингибиторы протеиназ, антиоксиданты, иммуноглобулины, опсонины и, что особенно важно, фибриноген вместе с другими белками плазмы крови, с переносом коагуляционных реакций с участием тромбина и фибриногена в ткани органов. Следовательно, при инфекционной агрессии может создаваться патологический не только внутри-, но и **периваскулярный фибриновый блок,** представляющий собой **второй или патологический барьер** на пути распространения гнойной деструкции тканей, транслокации кишечной микрофлоры и генерализации инфекции. Одной из иллюстраций к сказанному выше являются данные, полученные в недавней диссертационной работе С. Ю. Капитулина, в ходе которой было проведено исследование плевральной жидкости у больных с острой эмпиемой плевры [11]. Как известно, эта патология часто возникает в связи с воспалительными процессами в легких - острой пневмонией, острыми и хроническими гнойными заболеваниями легких [12]. Согласно полученным С. Ю. Капитулиным данным, уровень D-димеров в плевральной жидкости статистически значимо выше у наиболее тяжелых больных эмпиемой плевры, с формированием полиорганной недостаточности - ПОН (n=24), в сравнении с такими же больными (n=78) без этого серьезного осложнения (16,4±1,5 нг/мл против 11,2±0,7 нг/мл; $p<0,01$).

Интересно, что все другие изученные показатели плевральной жидкости в обозначенных группах не отличались между собой (включая С-реактивный белок, уровень амилазы, белка, глюкозы, величину удельного веса и pH, число нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов). Можно видеть, что локальное усиление протеолитических реакций (прежде всего лейкоцитарного происхождения), в описанных клинических случаях приводившее к лизису внутриплевральных отложений фибрина, способствует раскрытию путей транслокации токсинов и инфекции из межплеврального пространства в лимфу и в общий кровоток, что влекло за собой утяжеление состояния больных, генерализацию процесса и развитие органной дисфункции. Этот частный пример из наших клинических наблюдений подтверждает обозначенную ранее принципиально важную роль внутрисосудистых и периваскулярных реакций свертывания крови для отграничения патологического очага и положительной динамики течения инфекционных поражений тканей и органов [13-15].

В продолжение выполненных работ нами в 2010-2013 гг. были организованы новые проспективные исследования, призванные пролить дополнительный свет на участие эндотелия, коагуляционных реакций и воспаления в развитии инфекционно-деструктивных поражений легких при тяжелой пневмонии (n=68), эмпиеме плевры (n=93), а также при раке панкреатодуоденальной зоны, осложненном механической желтухой (n=106) и холангитом (n =38). Всего было обследовано 267 больных, проходящих лечение в КГБУЗ «Городская больница № 5» г, Барнаула, характеристика и описание которые публиковались ранее [16-18].

Контрольная группа включала в себя 26 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с наблюдаемыми пациентами.

У всех больных при поступлении в стационар и в динамике заболевания оценивались ведущие клинико-лабораторные признаки синдрома системной воспалительной реакции (ССВР или SIRS - Sistemic Inflammatory Respons Syndrom), принятые на Международной согласительной конференции Американского колледжа пульмонологов и Общества медицины критических состояний в Чикаго (1992 г.) [19]. Состояние тяжести больных и риск летальности в динамике развития заболевания оценивались по шкале APACHE II (the Acute Physiology, Age, Chronic Heath Evaluation), а характеристика полиорганной недостаточности и динамическая оценка тяжести состояния - по шкале SOFA (Score Sequential Organ Failure assessment). Лабораторное обследование также выполнялось в динамике - на 1-е, 3-5-е и 7-10-е сутки со дня госпитализации. Оно включало в себя исследование ряда параметров системы гемостаза [20] и маркеров системной воспалительной реакции согласно рекомендациям Согласительной конференции (American College of Chest Physicians and Society of Clinical Care Medicine - ACCP/SCCM Consensus Conference) [21].

В данной публикации мы остановимся на части полученных данных, позволяющих в сравнительном плане (при разных видах и локализации поражения) проследить реакции эндотелия, гемостаза и воспаления в ответ на инфекционную агрессию.

В число анализируемых параметров были включены определения:

- маркеров эндотелиопатии - эндотелина 1 и фактора Виллебранда иммуноферментным методом с применением тест-системы ENDOTHELIN (1-21) (BIOMEDICA GRUPPE) и vWF: Ag ELISA (TECHNOCLONE) соответственно;
- показателей воспалительной реакции - провоспалительных цитокинов (интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α)) и С-реактивного белка-иммуноферментным методом с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (соответственно «Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-1бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» и «СРБ-ИФА-БЕСТ (высокочувствительный)»).;
- эндогенного тромбинового потенциала в тесте генерации тромбина, позволяющего измерять динамику образования и инактивации тромбина [22]. Для этого использовался планшетный флюориметр Fluoroskan Ascent «ThermoFisher SCIENTIFIC» (Финляндия), оснащенный диспенсером, с программным обеспечением Thrombinoscope 3.0.0.26. Коагуляция исследуемой плазмы крови осуществлялась в присутствии 5 pM тканевого фактора и 4 μM фосфолипидов, генерация тромбина регистрировалась посредством измерения сигнала от флуорогенного субстрата (Z-Gly-Gly-Arg- AMC). Учитывался ETP (endogenous thrombin potential - эндогенный тромбиновый потенциал, нМ×мин), рассчитывающий площадь под кривой генерации тромбина и учитывающий особенности инактивации этого фермента, и Peak thrombin

(пиковая концентрация тромбина, нМ) - максимальная концентрация тромбина в единицу времени;

- уровня D-димеров в плазме крови на автоматическом иммунохимическом анализаторе Immulite 2000 (Siemens) с использованием реагентов для количественного твердофазного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа Immulite 2000 D-Dimer (Siemens).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью программ Microsoft Offis Exel 2003, Statistica 6.1 и Medcalc 12.2.1. Достоверность различий между средними величинами определяли с помощью критерия значимости Стьюдента (t). Нормальность распределений в группах оценивали по критерию Шапиро - Уилка. В том случае, когда распределение отклонялось от нормального, использовался непараметрический критерий Манна - Уитни для двух независимых групп, а также ранговый коэффициент корреляции Спирмена (R). Статистически значимыми принимались различия $p<0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Как известно, в обычных, физиологических условиях внутренняя поверхность кровеносных сосудов препятствует агрегации тромбоцитов, регулирует тонус сосудов и ингибирует свертывание крови, формируя так называемую тромборезистентность. При сепсисе же в силу ряда известных механизмов происходят повреждение и активация эндотелиальных клеток, развивается так называемая системная эндотелиопатия. Фактор Виллебранда (ФВ) принадлежит к одним из наиболее важных маркеров повреждения эндотелия [23; 24].

В.наших наблюдениях уровень ФВ у больных эмпиемой плевры был повышен в начале наблюдений (при норме 101,08±5,70%) и динамично снижался в ходе проводимой терапии, причем определена достоверно значимая разница (22,8%, $p<0,01$) по этому показателю между подгруппами больных на 3-5-е сутки после поступления в стационар (таблица 1).

Таблица 1

Динамика активности фактора Виллебранда у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Все больные (*n*=93)		Подгруппы больных				
				первая (без ПОН) (*n* =72)		вторая (с ПОН) (*n* =21)		Р
		X	± m	X	± m	X	± m	
Фактор Виллебранда, антиген,%	1	134,46	5,54	131,90	6,57	142,41	10,12	>0,05
	3-5	119,56	4,22	114,63	4,37	137,38	10,31	<0,01
	10	110,77	2,98	110,98	3,63	110,00	4,26	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$	<0,02		<0,02		>0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	>0,05		>0,05		<0,01		
	P_{1-10}	0,001		0,01		0,01		

Примечание: ПОН - полиорганная недостаточность

Именно в этот период наблюдений имелась и прямая корреляционная связь между концентрацией ФВ и выраженностью органной дисфункции (по шкале SOFA) как в первой ($r=-0,313$, $p=0,031$), так и во второй подгруппе больных ($r=-0,417$, $p=0,030$).

Данный показатель эндотелиопатии оказался также выше контрольных данных при механической желтухе (таблица 2).

Таблица 2

Динамика активности фактора Виллебранда у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки исследования (сутки) и достоверность различий «р»	Все больные (*n*=106)		Подгруппы больных				
				первая (без холангита) (*n*=68)		вторая (с холангитом) (*n*=38)		Р
		X	± m	X	± m	X	± m	
Фактор Виллебранда, антиген,%	1	138,49	3,08	139,91	3,99	136,07	4,84	>0,05
	3-5	132,23	2,19	132,09	2,68	132,47	3,85	>0,05
	10	118,25	6,08	114,58	1,21	124,55	3,51	<0,01
	$P_{1-(3-5)}$	0,05		0,05		0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	<0,05		<0,001		>0,05		
	P_{1-10}	<0,01		<0,001		>0,05		

В частности, у больных с механической желтухой без признаков холангита в начале наблюдений концентрация ФВ была больше контрольного уровня на 38,11% (p<0,001), а у пациентов с холангитом - на 34,27% (p<0,001). Данный показатель в последующем снижался лишь в группе больных с холангитом, что было достоверно значимо на 10-е сутки наблюдений. Установлена обратная корреляционная связь между активностью ФВ и тяжестью состояния при механической желтухе по шкале APACHE II у больных без признаков острого холангита при поступлении (r=- 0,342, p=0,035) и на 3-5-е сутки после операции (r=-0,404, p=0,007), а также прямая связь по шкале SOFA у пациентов с холангитом при поступлении (r=0,609, p=0,002).

Еще более высокий рост ФВ в плазме крови больных был отмечен при ТП (таблица 3).

В частности, выявлено его стабильное и статистически значимое повышение у больных ТП по сравнению с контрольными показателями на 1-е сутки исследования - на 92,79%, 3-5-е сутки - на 85,75% и на 10-е - на 71,41%, однако достоверно значимой разницы в показателях у выздоровевших и умерших больных определено не было.

Таблица 3

Динамика активности фактора Виллебранда у больных тяжелой пневмонией на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (суток) и «р»	Все больные (*n*=68)		Подгруппы больных				
				первая (выздоровевшие)(*n*=58)		вторая (умершие) (*n*=58)		P_1
		X	± m	X	± m	X	± m	
Фактор Виллебранда, антиген, %	1	193,88	9,07	199,00	10,00	168,33	20,41	>0,05
	3-5	186,84	8,89	188,49	9,75	175,00	20,83	>0,05
	10	172,50	10,79	172,81	10,89	151,33	24,93	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$	0,05		0,05		0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	>0,05		>0,05		>0,05		
	P_{1-10}	>0,05		>0,05		>0,05		

Наряду с увеличением уровня ФВ в плазме крови больных была обнаружена повышенная концентрация и другого известного маркера дисфункции эндотелия - эндотелина-1. Так, при его среднем содержании у практически здоровых людей на уровне 0,56+0,08 фмоль/мл у больных эмпиемой плевры в первый день наблюдений данный показатель был выше в 3,5-4,0 раза (p<0,001) (таблица 4).

Таблица 4

Динамика концентрации эндотелина-1 у больных эмпиемой плевры на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (суток) и «р»	Все больные (*n*=93)		Подгруппы больных				
				первая (без ПОН) (*n*=72)		вторая (с ПОН) (*n*=21)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
Эндотелин-1, фмоль/мл	1	2,18	0,34	2,26	0,40	1,97	0,66	>0,05
	3-5	1,93	0,23	1,86	0,28	2,11	0,44	>0,05
	10	1,29	0,29	1,42	0,34	0,82	0,06	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$	>0,05		>0,05		>0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	>0,05		>0,05		<0,01		
	P_{1-10}	<0,01		>0,05		>0,05		

Отмечено также динамичное снижение этого показателя по мере протекания патологического процесса и проводимого лечения. Однако статистически значимой связи его концентрации с показаниями интегральных шкал найдено не было.

С повышением уровня эндотелина-1 мы столкнулись и при обследовании больных с механической желтухой (таблица 5). В частности, у больных с этой патологией без признаков холангита в начале наблюдений концентрация эндотелина-1 была больше контрольного уровня на 0,35 фмоль/мл (p<0,001), а у пациентов с холангитом - на 0,61 фмоль/мл (p<0,001).

Динамика концентрации эндотелина-1 у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки исследования (сутки) и достоверность различий «р»	Все больные (*n*=106)		Подгруппы больных				
				первая (без холангита) (*n*=68)		вторая (с холангитом) (*n*=38)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
Эндотелин-1, фмоль/мл	1	1,01	0,09	0,91	0,06	1,17	0,19	>0,05
	3-5	0,95	0,09	0,86	0,09	1,06	0,14	>0,05
	10	1,46	0,15	0,65	0,09	1,88	0,19	<0,001
	$P_{1-(3-5)}$	0,05		0,05		0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	<0,01		>0,05		<0,001		
	P_{1-10}	<0,01		<0,02		<0,01		

Ожидаемо было то, что в процессе лечения уровень данного маркера снижался при неосложненной механической желтухе и, напротив, статистически значимо повышался при желтухе, осложненной гнойным холангитом. В этом разделе работы была определена обратная корреляционная связь между концентрацией эндотелина-1 и тяжестью состояния у больных с холангитом по шкале APACHE II в начальные сроки наблюдений (r=-0,447, p=0,019).

У больных тяжелой пневмонией обнаружено еще более значимое увеличение концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови в сравнении с его контрольными значениями (таблица 6).

Таблица 6

Динамика уровня эндотелина-1 у больных тяжелой пневмонией на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Все больные (*n*=68)		Подгруппы больных				
				первая (выздоровевшие) (*n*=58)		вторая (умершие) (*n*=10)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
Эндотелин-1, фмоль/мл	1	1,08	0,17	1,00	1,18	1,74	0,42	>0,05
	3-5	1,19	0,24	1,04	0,24	2,31	0,58	<0,01
	10	1,62	0,37	0,90	0,27	3,05	0,34	<0,01
	$P_{1-(3-5)}$	0,05		0,05		0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	>0,05		>0,05		>0,05		
	P_{1-10}	>0,05		>0,05		<0,05		

Важно отметить, что данный показатель нарастал при неблагоприятном исходе тяжелой пневмонии. Определено, что у таких больных на 3-5-е сутки наблюдений уровень эндотелина-1 был статистически значимо выше на 1,27 фмоль/л (p<0,01), а на 10-е сутки - на 2,15 фмоль/л (p<0,01) по сравнению с выжившими больными.

Как известно, эндотелий кровеносных сосудов обеспечивает первое связующее звено важнейших ферментативных систем крови, поскольку поврежденный монослой этих клеток при сепсисе играет роль поверхности, на которой развертываются процессы коагуляции и воспаления. В процессе развития воспалительной реакции цитокины модулируют систему свертывания, уменьшая экспрессию тромбомодулина и активацию протеина С, и параллельно способствуют генерации и выбросу в кровоток тканевого фактора, нарушая баланс между прокоагулянтной и антикоагулянтной составляющими системы гемостаза. При этом увеличение в крови содержания фактора Виллебранда и эндотелина-1 происходит главным образом под действием на эндотелий кровеносных сосудов провоспалительных цитокинов - ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО-α. Кроме того, указанные цитокины обеспечивают экспрессию тканевого фактора, ингибируют фибринолиз и систему физиологических антикоагулянтов, способствуя тем самым возникновению тромботических осложнений [9; 25; 26]. Кроме того, известно, что провоспалительные цитокины стимулируют гепатоциты, следствием чего является увеличение концентрации в сыворотке крови белков острой фазы воспаления [23]. В их число входит СРБ – классический острофазовый белок, который рассматривается в качестве одного из наиболее чувствительных лабораторных маркеров инфекции, воспаления и повреждения тканей [27]. Эти данные послужили основанием для оценки в нашей работе как содержания отмеченных выше

провоспалительных цитокинов, так и концентрации СРБ.

Данные о динамике содержания цитокинов в сыворотке крови приведены на рисунках 1-3, откуда видно, что в случае эмпиемы плевры уровень ИЛ-1 существенно превышал контрольные значения вне зависимости от сроков наблюдения (6,42-9,94 пг/мл; p<0,05). При этом определено, что у умерших пациентов данный показатель был статистически значимо выше на 10-е сутки на блюдений (рисунок 1). Близкие уровни ИЛ-1 были зафиксированы при механической желтухе (вне зависимости от наличия или отсутствия гнойного холангита) - 5-29-11,99 пг/мл (p<0,05). Однако более выраженный рост искомого показателя наблюдался при тяжелой пневмонии, превышающей контрольные значения в 6,4-28,6 раза (p<0,05). В этой группе больных уровень ИЛ-1 был статистически значимо выше в подгруппе умерших на 3-5-е и 10-е сутки наблюдений.

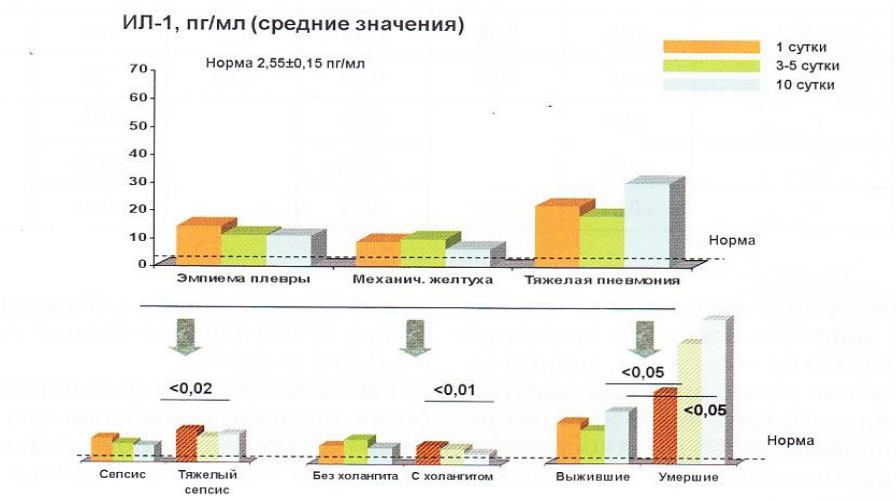


Рисунок 1. Динамика уровня ИЛ-1 у больных эмпиемой плевры, механической желтухой и тяжелой пневмонией

Другой провоспалительный цитокин-ИЛ-6-имел схожую тенденцию к повышению в сравнении с контрольными значениями, однако при его измерении было получено больше интересной информации. В случае эмпиемы плевры измеряемый показатель динамично снижался (рисунок 2), и прежде всего у выживших больных (p<0,02), тем не менее у умер ших он был стабильно высоким и определялся (по средним данным) в диапазоне от 17,6 до 19,9 пг/мл в различные сроки наблюдений. Интересно отметить, что уровень ИЛ-6 находился в обратной пропорции с тяжестью состояния пациентов (по шкале APACHE II) в 1-е сутки наблюдений у больных с тяжелым сепсисом и ПОН (r=-0,660, p=0,010).

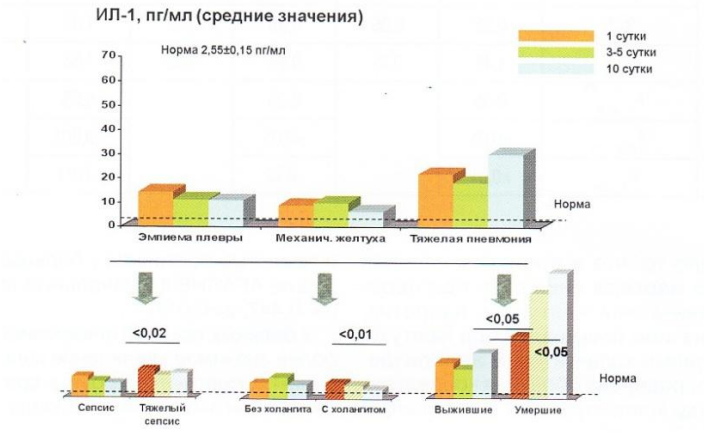


Рисунок 1. Динамика уровня ИЛ-1 у больных эмпиемой плевры, механической желтухой и тяжелой пневмонией

Практически идентичные данные были установлены и у больных с механической желтухой, где осложнение гнойным холангитом сопровождалось наибольшим ростом этого показателя (в среднем до 35,3 пг/мл), прежде всего на 10-е сутки исследований. Несколько иная динамика прослеживалась по ИЛ-6 у больных эмпиемой плевры. У всех больных, находившихся под наблюдением, на 10-е сутки был отмечен высокий уровень этого цитокина. В то же время у выживших больных данный показатель в начальные и средние сроки наблюдений был сравнительно низким (p<0,05).

Повторял динамику ИЛ-6 у обследованных больных и ФНО-α, уровень которого был достоверно выше в сравнении с контрольными значениями вне зависимости от сроков наблюдения (рисунок 3). К другим особенностям динамики этого провоспалительного цитокина

можно отнести парадоксальное увеличение значений у больных механической желтухой с холангитом в сравнении с пациентами без этого осложнения (на 3-5-е и10-е сутки наблюдений; p<0,05).

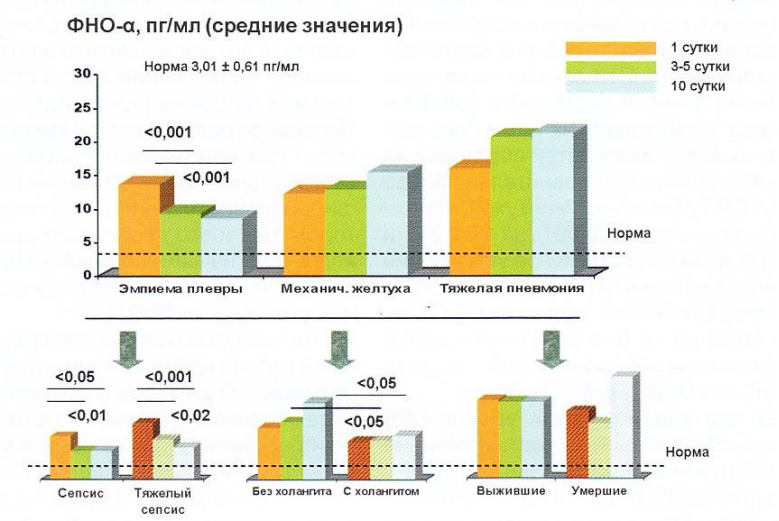


Рисунок 3. Динамика уровня ФНО-α у больных эмпиемой плевры, механической желтухой и тяжелой пневмонией

В ходе проведенного анализа была установлена прямая связь повышения ФНО-α с выраженностью органной дисфункции при сепсисе у больных эмпиемой плевры (по шкале APACHE II) на 3-5-е сутки наблюдений (r=-0,418, p=0,023). Кроме того, определена корреляционная связь между концентрацией ФНО-α и тяжестью состояния пациентов по шкале APACHE II у больных с острым холангитом при поступлении (r=- 0,406, p=0,036).

Связь процессов воспаления и изменений в системе гемокоагуляции можно считать закономерной и доказанной - она опосредована общими плазменными, клеточными и сосудистыми компонентами [3; 23; 28; 29]. Описать эти процессы на современном уровне представляется возможным и при помощи измерения так называемых «глобальных» свидетелей, или маркеров, повышение концентрации которых проявляет себя при напряжении ферментативных и клеточных систем, сформированных на уровне многоклеточного организма в ходе филогенеза. К числу таких интегральных маркеров, характеризующих воспалительную реакцию, относят С-реактивный белок (СРБ) - основной представитель семейства белков острофазового ответа. Данный белок синтезируется в клетках печени и выступает важным участником острого воспалительного процесса, связанного с системными инфекциями или с некрозом тканей [24]. Установлено, что повышение СРВ ассоциируется с эндотелиальной дисфункцией и тромбообразованием [30-35]. Этот острофазный белок повышает синтез молекул адгезии (ICAM, VCAM, E-selectin, хемокин MCP-1), активирует дифференцировку моноцитов в макрофаги, индуцирует секрецию моноцитарного тканевого фактора, индуцирует выход провоспалительных цитокинов из моноцитов и, наконец, стимулирует тромбоз за счет подавления тканевого активатора плазминогена (tPA). Все перечисленное приводит к проатерогенным, провоспалительным и прокоагулянтным эффектам этого маркера [29; 30; 34].

Данные о динамике количественного содержания этого белка представлены на рисунке 4.

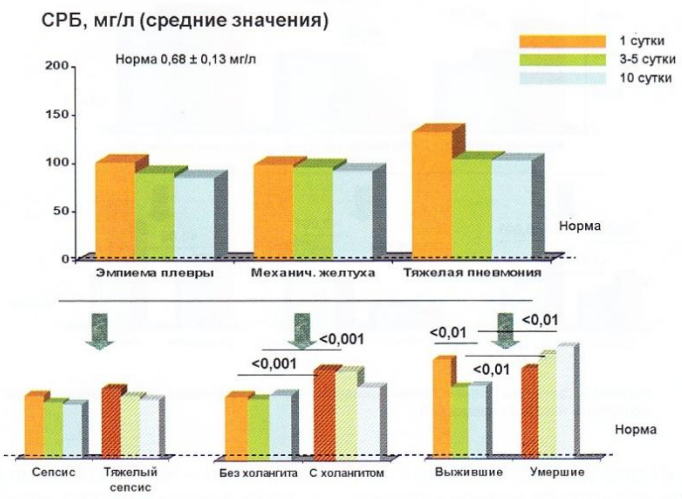


Рисунок 4. Динамика уровня СРБ у больных эмпиемой плевры, механической желтухой и тяжелой пневмонией

При лабораторном обследовании уровень СРБ у больных со всеми видами исследованной патологии был критически высоким (82,1-152,0 мг/мл) в сравнении с данными, полученными в контрольной группе практически здоровых людей, вне зависимости от сроков наблюдений. Эти данные свидетельствовали о раннем развитии системного воспалительного процесса у наблюдаемых нами больных. В числе найденных закономерностей обращали на себя внимание обнаруженный сравнительно более высокий уровень СРБ у больных с желтухой, осложненной гнойным холангитом ($p<0,001$), на 1-й и 3-5-й дни обследования, а также динамичное увеличение этого маркера воспалительной реакции у умерших больных, страдавших тяжелой пневмонией. Отметим, что у таких больных на 10-е сутки наблюдений определялся максимальный уровень СРБ - в среднем достигающий 152,0±16,3 мг/л.

Тем не менее при анализе связи уровня СРБ больных с эмпиемой плевры с тяжестью течения заболевания обнаружена обратная корреляционная зависимость ($r=-0,285$, $p=0,044$) на 1-е сутки наблюдений между уровнем данного воспалительного маркера и выраженностью органной дисфункции по шкале SOFA, что свидетельствовало об относительном запаздывании нарастания концентрации СРБ в сравнении с проявлениями синдрома полиорганной недостаточности на ранних сроках данного заболевания.

В целом же найденные изменения и закономерности сочетались у обследованных больных с проявлениями системной воспалительной реакции, с повышением уровня С-реактивного белка в сыворотке крови. Раннее сочетанное нарастание в крови этих интегральных маркеров воспалительных реакций и эндотелиопатии определяло неблагоприятное течение заболевания и формировало предпосылки к возникновению полиорганной недостаточности.

В свою очередь, напряженность реакций внутрисосудистого свертывания крови при инфекции и системной воспалительной реакции может быть оценена по нарастанию уровня другого интегрального маркера - D-димеров [20; 28; 36]. Как правило, за пристеночным тромбообразованием следует немедленный фибринолитический ответ, сопровождающийся нарастанием в кровотоке продуктов протеолиза фибрина (преимущественно D-димеров). Последнее расценивается как следствие напряженности гемостатических процессов и проявляет не столько тромбинемию, сколько свершившийся факт фибринообразования, стабилизацию фибрина фактором XIIIa и его лизис/растворение плазмином и/или аналогичными по механизму действия трипсиноподобными протеазами лейкоцитов и бактериальных клеток [1; 5; 18; 37].

Это послужило основанием для изучения в настоящей работе количественного содержания второго маркера - D-димеров в плазме крови при разных видах патологии. Уровень этого свидетеля фибринообразования и фибринолиза был высоким у всех больных эмпиемой плевры, превышающим контрольные значения, по средним данным, в 10,9-21,9 раза на разных сроках наблюдений (рисунок 5). На фоне проводимой терапии данный показатель заметно снижался - примерно в 2 раза между начальным и конечным периодами наблюдений. Интересно отметить, что у больных с сепсисом концентрация D-димеров была также (как и уровень СРБ) изначально ниже по сравнению с более тяжелой группой больных (с тяжелым сепсисом), однако полученная разница, по средним данным, не была достоверной. В последующие сроки наблюдений эта разница оказалась более отчетливой - на 3-5-е сутки на 29,1% ($p<0,02$) и на 10-е сутки на 50,3% ($p<0,02$). Связь концентрации D-димеров с тяжестью состояния больных с эмпиемой плевры проявилась и в результатах проведенного корреляционного анализа. По его результатам отмечена сильная корреляционная связь между уровнем D-димеров и выраженностью органной дисфункции на 3-5-е сутки наблюдений по шкале SOFA ($r=0,622$; $p=0,023$).

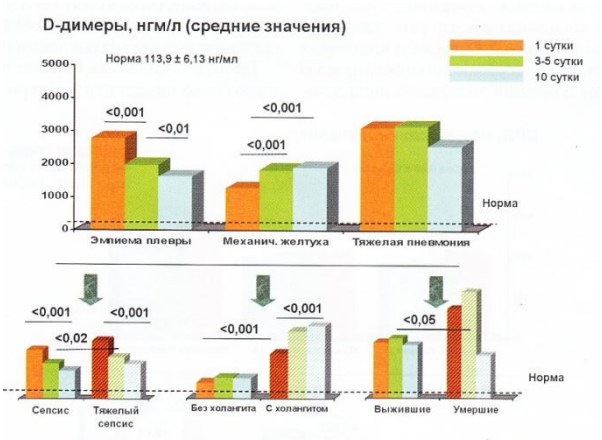


Рисунок 5. Динамика концентрации D-димеров у больных эмпиемой плевры, механической желтухой и тяжелой пневмонией

В свою очередь, у больных с механической желтухой без признаков холангита в начале наблюдений уровень D-димеров был больше контрольных данных - на 645,48 нг/мл ($p<0,001$), а у пациентов с холангитом - на 2039,09 нг/мл ($p<0,001$). У больных с гнойным холангитом по сравнению с пациентами, у которых холангит отсутствовал, он был больше на 1393,61 нг/мл ($p<0,001$). В последующем нарастание концентра-

ции D-димеров фиксировалось лишь у больных с гнойным процессом. Установлена корреляционная связь между уровнем D-димеров и тяжестью состояния больных с острым холангитом по шкале APACHE II на 10-е сутки наблюдений у пациентов (r=0,549; p=0,05).

Не была исключением в этом отношении и динамика содержания D-димеров в плазме крови больных тяжелой пневмонией. В этих случаях отмечалось стабильно высокое повышение искомого маркера с более высоким его уровнем в начале и в середине сроков наблюдений у умерших больных (p<0,05).

Как известно, реакциям системы гемостаза, и прежде всего образованию тромбина, отводится важная роль в формировании и прогрессировании органной дисфункции при сепсисе [3; 9]. В связи с этим мы проследили способность плазмы крови больных с разными видами патологии к генерации тромбина как интегральному показателю, отражающему общую тромботическую готовность крови.

Парадоксальным явилось то, что во всех группах больных наблюдалось снижение генерации тромбина вне зависимости от сроков обследования (при норме 1505,72+94,01 нмоль/л), хотя уровень D-димеров при этом значительно превышал контрольные значения (таблица 7, рисунок 5). По итогам динамических наблюдений по всей группе больных эмпиемой плевры было установлено снижение эндогенного тромбинового потенциала плазмы крови с 1-х на 3-5-е сутки исследований на 8,8% (p<0,02) и с 1-х на 10-е сутки на 16,2% (p<0,001). Важно отметить, что в подгруппе больных с ПОН в день госпитализации имелся больший уровень ETP, который оставался высоким и на 10-е сутки наблюдений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в наиболее тяжелой группе больных эмпиемой плевры с тяжелым сепсисом и полиорганной недостаточностью имеется сравнительно большая способность к генерации тромбина и, соответственно, более выражены процессы внутрисосудистого тромбообразования.

Таблица 7

Динамика показателя ETP в тесте генерации тромбина у больных эмпиемой плевры

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Все больные (*n*=93)		Подгруппы больных				
				первая (без ПОН) (*n*=72)		вторая (с ПОН) (*n*=21)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
ETP, нмоль/л	1	1172,01	28,18	1154,41	36,03	1214,54	40,85	>0,05
	3-5	1068,49	34,58	1053,60	46,76	1100,52	43,52	>0,05
	10	981,75	48,23	857,89	51,30	1185,25	67,73	<0,001
	$P_{1-(3-5)}$	<0,02		>0,05		>0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	>0,05		<0,01		>0,05		
	P_{1-10}	<0,001		<0,001		>0,05		

Данная закономерность подтвердилась результатами корреляционного анализа связи между интенсивностью генерации тромбина и тяжестью состояния больных по шкале APACHE II.

В частности, между этими параметрами выявлена достоверно выраженная связь среди больных второй подгруппы на 3-5-е сутки наблюдений (r=0,412, p=0,032).

Схожая тенденция определена и у группы больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, где показатель ETP в начале наблюдений был меньше контрольных данных на 415,09 нмоль/л (p<0,001). При более детальном анализе обнаружено, что у больных с механической желтухой без признаков холангита показатель в этот же период ETP был меньше контрольного уровня на 438,3 нмоль/л (p<0,001), а у пациентов с холангитом (вторая подгруппа группы сравнения) - на 379,85 нмоль/л (p<0,001).

Таблица 8

Динамика показателя ETP в плазме крови у больных раком панкреатодуоденальной зоны, осложненным механической желтухой, на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Все больные (*n*=106)		Подгруппы больных				
				первая (без холангита) (*n*=68)		Вторая (с холанги том) (*n*=38)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
ETP, нмоль×мин	1	1090,63	28,44	1067,42	39,99	1125,87	37,89	>0,05
	3-5	1222,35	31,14	1281,65	28,97	1099,21	61,79	<0,01
	10	1067,05	34,74	1061,88	45,49	1078,31	50,56	>0,05
	$P_{1-(3-5)}$	<0,01		<0,001		>0,05		
	$P_{(3-5)-10}$	<0,001		<0,001		>0,05		
	P_{1-10}	>0,05		>0,05		>0,05		

В более поздние сроки исследований интенсивность генерации тромбина продолжала снижаться, причем это снижение наблюдалось в большей степени утех больных, где имелись признаки гнойного холангита на 3-5-е сутки наблюдений (p<0,01). Установлено, что у таких больных по шкалам SOFA и APACHE II на 3-5-е сутки после операции наблюдалась прямая связь (r=0,515; p=0,049), соответствовавшая утяжелению состояния этих пациентов.

Не была исключением и динамика генерации тромбина у больных тяжелой пневмонией, что проявило себя наиболее ярко (таблица 9).

Таблица 9

Динамика показателя ETP в плазме крови у больных тяжелой пневмонией на разных сроках заболевания

Показатель	Сроки госпитализации от начала болезни (сутки) и «р»	Все больные (*n*=68)		Подгруппы больных				
				первая (выздоровевшие) (*n*=58)		вторая (умершие) (*n*=10)		P
		X	± m	X	± m	X	± m	
ETP, нмоль×мин	1	983,50	89,97	984,16	95,50	838,00	86,74	>0,05
	3-5	911,33	67,05	966,70	73,11	569,83	78,83	<0,01
	10	1285,11	113,40	1336,40	116,47	525,00	71,91	<0,01
	P1 -(3-5)	>0,05		>0,05		<0,05		
	P(3-5) —10	<0,05		<0,05		>0,05		
	P1 -10	0,05		0,05		0,05		

Снижение интенсивности генерации тромбина в этой группе больных было наибольшим (в сравнении с контрольными данными) как в начале, так и в заключение проведенных исследований. При этом определено снижение показателя ETP в 1-е сутки исследований в 1,53 раза (p<0,05), а на 3-5-е сутки - в 1,65 раза(p<0,05). Примечательно, что на 10-е сутки наблюдений отмечалась статистически значимая разница средних значений показателя между различными исходами заболевания (p<0,01).

Таким образом, процесс тромбинообразования у больных всех обследованных групп отчетливо был подавлен по сравнению с его характеристиками в плазме крови практически здоровых людей, что может рассматриваться как срыв компенсаторных реакций.

Исследованные показатели состояния эндотелия кровеносных сосудов, воспалительной реакции и системы гемостаза во многих случаях не только коррелировали с тяжестью больных (по шкалам APACHE II и SOFA), но и являлись прогностически значимыми для течения заболевания и его исхода. Помимо изложенных выше данных в этом отношении отметим маркерную роль ряда параметров крови у больных тяжелой пневмонией. В частности, значимыми предикторами летального исхода при этом виде патологии явились резкое снижение генерации тромбина (по показателю ETP), повышенный уровень CPB и стабильное повышение уровня эндотелина-1 в течение всего периода наблюдений (таблица 10).

Таблица 10

Лабораторные предикторы неблагоприятного исхода тяжелой пневмонии

Маркеры	Подгруппы больных				Oddis ratio (95% Cl)	P
	первая (выздоровевшие)		вторая (умершие)			
	+	-	+	-		
ETP менее 525,0 нмоль×мин на 10-е сутки наблюдений	1	25	5	1	21,7 (3,07-153,05)	0,002
Стойко увеличенный уровень CPB в течение 10 суток наблюдений	10	48	4	2	14,0 (1,70-115,40)	0,014
Стабильное повышение уровня эндотелина-1 в течение 10 суток наблюдений	12	46	3	1	9,4 (1,05-83,76)	0,045

Примечание: «+» - наличие отмеченного признака,«-» - отсутствие признака

Заключение

Представленные данные проявляют разносторонние и статистически значимые связи между показателями, отражающими эндотелиопатию, системную воспалительную реакцию и гемостатические процессы при септическом процессе с поражением различных органов и тканей.

Усиление гемостатических реакций и системного воспаления у больных острой эмпиемой плевры показало свое влияние на повреждение эндотелия кровеносных сосудов, следствием чего явилось стабильное увеличение содержания в крови классических маркеров эндотелиоза - фактора Виллебранда и эндотелина-1. При этом была выявлена прямая взаимосвязь между активностью фактора Виллебранда, уровнем эндотелина-1 и тяжестью состояния больных

Найденные изменения и закономерности сочетались у обследованных пациентов с проявлениями системной воспалительной реакции, с повышением уровня С-реактивного белка, ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО-α, а также D-димеров. Раннее сочетанное нарастание в крови этих интегральных маркеров, соответственно воспалительных и гемостатических реакций определяло неблагоприятное течение заболевания и формировало предпосылки к возникновению полиорганной недостаточности. Так, в ходе исследования была установлена прямая связь повышения ФНО-α с выраженностью органной дисфункции при сепсисе у больных эмпиемой плевры (по шкале APACHE II), а также сравнительно более высокий уровень фактора Виллебранда и D-димеров в группе больных с ПОН (на 3-5-е сутки наблюдений).

Не менее значимая разница по показателям изучаемых систем была распознана при механической желтухе, осложненной гнойным холангитом у больных раком панкреатодуоденальной зоны, в сравнении с пациентами без этого осложнения. В частности, присоединение холангита сочеталось с достоверно большим ростом как фактора Виллебранда, так и эндотелина-1 (на 10-е сутки), концентрации ИЛ-6, ФНО-α и СРБ (на 3-5-е сутки), а также с более интенсивным ростом уровня D-димеров уже с начальных сроков наблюдений.

Наблюдения при тяжелой пневмонии, в свою очередь, также характеризовались более значительным выбросом в кровоток эндотелина-1, ИЛ-1 и СРБ (на 3-10-е сутки наблюдений) при неблагоприятном исходе заболевания. Наряду с этим уровень D-димеров на 3-5-е сутки исследований у умерших больных с пневмонией был максимальным. Это и было удивительным, поскольку обычно увеличение содержания этого продукта протеолитических реакций связывается с активацией свертывающей и фибринолитической систем крови, в ходе которых образующийся фибрин укрепляется фибринстабилизирующим фактором XIIIa и в той или иной мере лизируется плазмином ДО уровня D-димеров [9; 38; 39]. По итогам исследований у наиболее тяжелых септических больных (из числа всех обследованных при разных видах патологии) интенсивность генерации тромбина была наименьшей и ассоциировалась с тяжелой полиорганной недостаточностью, что наиболее ярко показало себя у больных тяжелой пневмонией. Данный феномен снижения выработки тромбина может быть связан с возникающей дезадаптацией ферментативных систем крови, участвующих в формировании защиты от инфекционной агрессии в терминальной стадии заболевания за счет инициации вторичного или «патологического» фибринового барьера на границе между здоровыми и инфицированными тканями. Но он может быть объяснен и включением своеобразного защитного механизма, снижающего интенсивность системного фибринообразования, лежащего в основе формирования полиорганной недостаточности и гибели больных.

Таким образом, в настоящем исследовании оценена динамика уровня ряда известных маркеров повреждения эндотелия кровеносных сосудов, воспалительных и гемостатических реакций, прослежена их связь с тяжестью течения эмпиемы плевры, гнойного холангита, осложняющего течение механической желтухи при раке панкреатодуоденальной зоны и тяжелой пневмонии, определено их прогностическое значение. Полагаем, что движение в сторону дальнейшей расшифровки механизмов патологических реакций при сепсисе позволит улучшить оказание специализированной медицинской помощи и исходы у данной категории больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Момот, А. П. Управление гемостазом при критических состояниях. Аргументы «за» и «против» фармакологического подавления фибринолиза в профилактике и купировании массивных кровотечений/А. П. Момот, Я. Н. Шойхет, И. В. Молчанова, Л.П. Цывкина // Проблемы клинической медицины. - 2011. - № 3-4 (25).-С. 98-104.
2. Шойхет, Я. Н. Дефиниция в учении о синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / Я. Н. Шойхет, А. П. Момот // Проблемы клинической медицины. - 2009. - №1 (19).-С. 104-109.
3. Шойхет Я. Н. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей/Я. Н. Шойхет, А. П. Момот// Проблемы клинической медицины. - 2008. - №4 (16).-С. 102-117.
4. Шойхет Я. Н. К обоснованию новой технологии негепаринового усиления антикоагулянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемокомпонентной терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / Я. Н. Шойхет, А. П. Момот, В. А. Елыкомов // Проблемы клинической медицины. -2008. - № 5-6 (17-18).-С. 130-144.
5. Шойхет Я. Н. Взгляд на фибринолиз и протеолиз с позиции взаимодействия гемостатических и воспалительных реакций / Я. Н Шойхет, А.П. Момот, И. А. Карбышев//Проблемы клинической медицины. - 2013. - № 1 (30) - С. 98-103.
6. Шойхет Я. Н. Сопряженные нарушения коагуляционного гемостаза, дисфункция эндотелия и проявления воспалительного ответа при вирусно-бактериальной пневмонии / Я. Н Шойхет, А. П. Момот, И. А. Карбышев, Л. П. Цывкина, Д. А. Никитина//Проблемы клинической медицины. - 2009.- №4 (22)- 2010. №1 (23). – С. 128-132.
7. Шойхет Я. Н. Патогенетические подходы к лечению острого абсцесса и гангрены легких/ Я. Н. Шойхет, А. П. Момот, И. П. Рощев, С. В. Заремба// Проблемы клинической медицины.- № 1-2 (24).- С. 113-122.
8. Shapiro, N. The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis. / N. Shapiro, P. Schuetz, K. Yano et al. // Critical Care - 2010,14:R182 doi:10.1186/cc9290.
9. Levi, M. The coagulant response in sepsis and inflammation / M. Levi // Hamostaseologie. - 2010.-Vol. 30.- P. 10-16.
10. Aird W. C. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome/ W. C. Aird // Blood. - 2003. - Vol. 101. - P. 3765- 3777.

ПЕРЕДОВАЯ

К ОЦЕНКЕ НОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ НЕГЕПАРИНОВОГО УСИЛЕНИЯ АНТИКОАГУЛЯНТНЫХ СВОЙСТВ СВЕЖЕЗАМОРОЖЕННОЙ ПЛАЗМЫ ПРИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГЕМОКОМПОНЕНТНОЙ ТЕРАПИИ ДВС-СИНДРОМА

Я.Н. Шойхет, А.П. Момот, В.А. Елыкомов
Алтайский государственный медицинский университет,
Алтайский филиал ГУ «Гематологический научный центр РАМН», Барнаул, Россия

TOWARDS ASSESSMENT FOR NEW TECHNOLOGY OF NON-HEPARIN INTENSIFICATION OF ANTICOACULANT DEEP-FROZEN FRESH PLASMA PROPERTIES AT SUBSTITUTIVE HEMOCOMPONENTAL DIC-SYNDROME THERAPY

Ya.N. Shoykhet, A.P. Momot, V.A. Elykomov
Altai State Medical University, Altai Branch of Hematological Research Center RAMS, Barnaul, Russia

Функционирование системы гемостаза человека предусматривает эффективное кровоснабжение тканей, предупреждение кровопотерь и тромбозов, ишемий и инфарктов органов, защиту от диссеминации бактерий и токсинов, инициирование и течение воспалительных и ограничительных реакций в крови и периваскулярном пространстве. В физиологических условиях соблюдается баланс между жидким и агрегатным состоянием крови. И это не только противостояние про- и антикоагулянтов, процессов активации и ингибирования функции тромбоцитов и фибриноли- за (рис. 1). В системе гемокоагуляции действуют силы как самоускорения, так и самоторможения, в связи с чем процессы локального свертывания крови и тромбирования сосудов, как правило, ограничиваются местами повреждений сосудов и близлежащих тканей. И лишь при сверхпорого- вой, интенсивной активации этой системы и генерации в крови большого количества **тромбина** эти ограничительные механизмы становятся недостаточными, что ведет к развитию синдрома диссеминированного свертывания крови (ДВС), а при неправильном или запоздалом лечении часто заканчивается гибелью больного [9, 16].

Одним из важных проявлений ДВС-синдрома в ответ на факторы внешней или внутренней агрессии является блокада микроциркуляции в органах фибрином и агрегатами клеток крови с развитием сладжа и, вследствие этого, дистрофии и дисфункции органов-мишеней (или шок- органов). Раньше других и в наибольшей степени при этом страдают легкие, блокада микроциркуляции в которых с периваскулярным отеком приводит к неэффективному дыханию, гипоксии и другим метаболическим нарушениям. В наиболее тяжелых случаях этот процесс доходит до развития легочного дистресс-синдрома. Повреждение эндотелия и блокирование микроциркуляции с сопутствующим дисбалансом про- и антикоагулянтных систем крови, активаторов и ингибиторов фибринолиза при гнойно-деструктивных заболеваниях органов тесно связаны с фибринацией тканей вокруг очага деструкции и эффективным отграничением его или, наоборот, несостоятельностью первичного фибринового блока с прогрессированием воспалительного процесса, дальнейшим развитием ДВС-синдрома, септического шока, вторичным блоком легочной перфузии [4, 23, 33,43,47,49].

В дальнейшем, в по дострой фазе воспаления, фибриновые депозиты, выполнившие свою биологическую роль, подлежат элиминации с помощью механизмов локального фибринолиза. Ведущее значение в этом принадлежит веществам лейкоцитарного происхождения (протеазам — эластазе гранулоцитов, катепсину G, катепсину D моноцитов, активным кислородным радикалам, ряду катионных белков), которые облада-

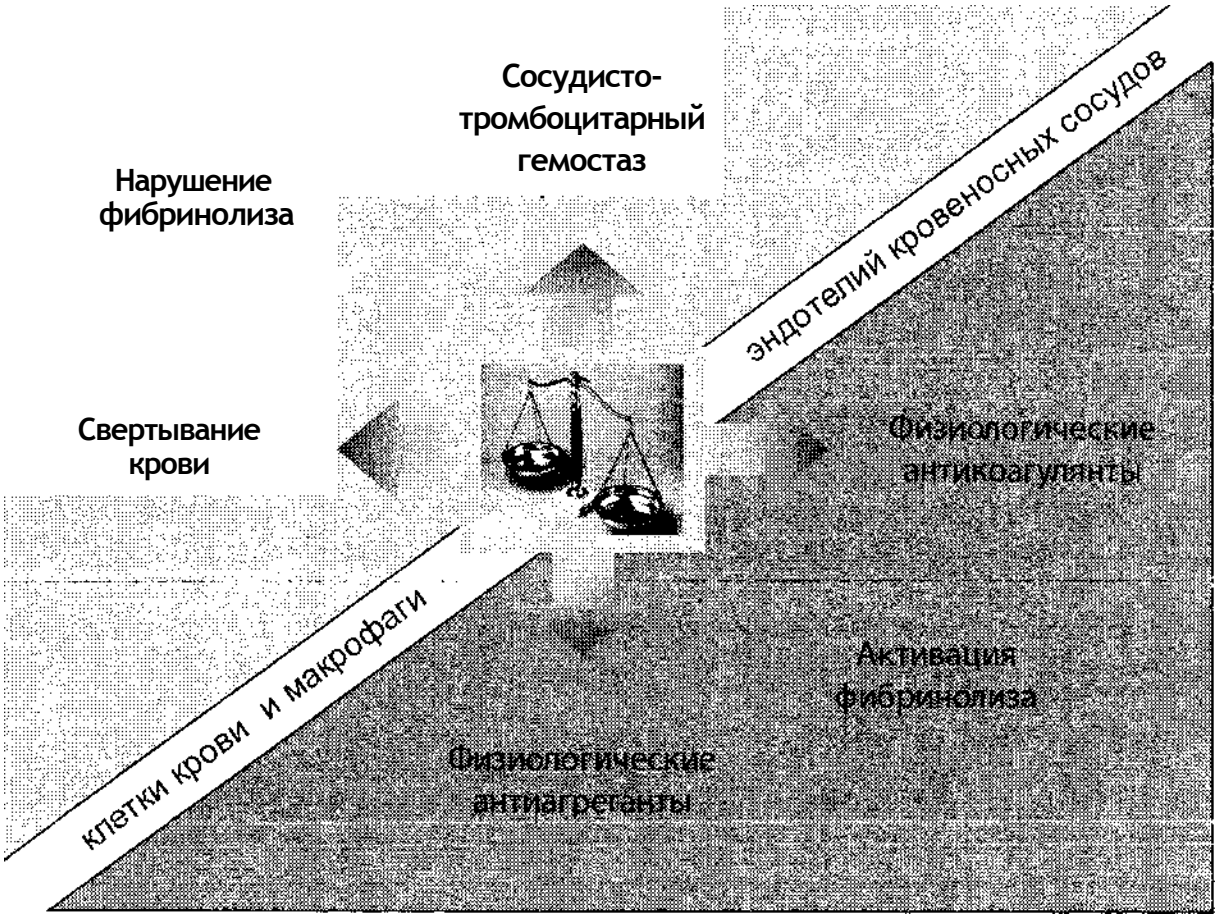


Рис. 1. Динамическое равновесие гемостатических реакций в условиях физиологической нормы.

ют не только бактерицидной активностью, но и мощным повреждающим потенциалом по отношению к собственным тканям [33,62,69, 71,76].

Доказано, что определяющую роль в патогенезе, клинике и исходах острого ДВС-синдрома играет тромбинемия и прогрессирующее истощение основных противосвертывающих механизмов с участием антитромбина III (АТ III), протеина С, тромбомодулина и ряда других, без восстановления уровня которых не может быть заблокирован процесс внутрисосудистого свертывания крови и ликвидирована тромбинемия [7, 10, 12, 13, 50].

Тромбин — ключевой фермент не только гемокоагуляции, но и гемостаза в целом, что определяется его многочисленными эффекторными воздействиями (рис. 2). Образуясь из неактивного предшественника — протромбина, эта сериновая протеиназа отвечает за следующие важнейшие функции:

— протеолиз фибриногена до фибрин-мономеров, которые спонтанно полимеризуясь, образуют сгусток фибрина, что происходит в жидкой фазе — кровотоке и в периваскулярном пространстве;
— активация факторов свертывания крови V, VII, VIII, XI и XIII (фибринстабилизирующего);
— активация агрегационной функции тромбоцитов;
— в комплексе с тромбомодулином тромбин активирует протеин С;
— способствует формированию так называемого активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI), располагающегося на фибрине.

Напрямую взаимодействует тромбин и с эндотелием, при этом его собственные тромбогенные воздействия в значительной мере уравниваются антикоагулянтными, антиагрегантными и профибринолитическими (табл. 1).

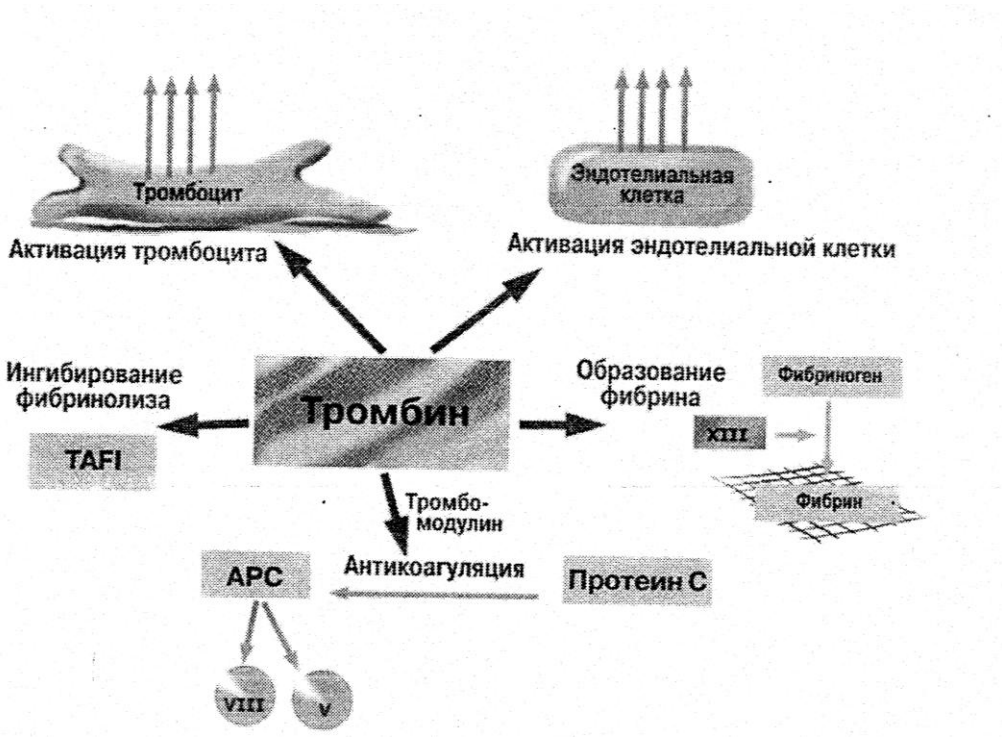


Рис. 2. Мишени для тромбина [68].
Примечание: TAFI — активируемый тромбином ингибитор фибринолиза.

Таблица 1

Основные эффекты тромбина при взаимодействии с сосудистой стенкой [22]

ПРЕИМУЩЕСТВЕННО АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ	ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ
1. Синтез и высвобождение простациклина (ингибитора агрегации тромбоцитов).	1. Синтез и высвобождение фактора агрегации тромбоцитов (FAT).
2. Синтез и высвобождение оксида азота (антиагреганта и вазодилятатора).	2. Выброс в кровоток фактора Виллебранда.
3. Эспрессия активатора плазминогена тканевого типа (TPA).	3. Экспрессия Р-селектина и адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудистой стенки.
4. Связывание с тромбомодулином и последующая активация протеина С.	4. Повышение проницаемости эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов.
5. Взаимодействие с AT III и гепарином, а также с гепариноподобными субстанциями сосудистой стенки.	5. Экспрессия тканевого фактора (TF) и активация тканевого пути активации свертывания крови.
6. Высвобождение ингибитора внешнего механизма свертывания (TFPI).	6. Высвобождение ингибитора активатора плазминогена тканевого типа (PAI-1).
	7. Высвобождение провоспалительных цитокинов из эндотелиальных клеток.
	8. Пролиферация гладкомышечных клеток сосудов.

Роль тромбина не ограничивается вышеперечисленными воздействиями. Ключевая роль в процессе свертывания крови, активация сосудистого эндотелия, клеточный рост и процессы репарации, участие в онкогенезе, активация клеток крови, мобилизация фибринолитических реакций — все это наиболее изученные функции тромбина. Можно ожидать, что с успехами молекулярной биологии и дальнейшим изучением межклеточных взаимодействий этот список получит свое продолжение.

После того, как выяснилось, что ведущим звеном патогенеза острого ДВС-синдрома является процесс внутрисосудистого свертывания крови с преимущественным истощением резерва физиологических антикоагулянтов (с отстающим по времени потреблением факторов свертывания крови) и блокадой микроциркуляции в органах, было определено, что основным методом патогенетической терапии данного синдрома должна стать *заместительная терапия препаратами крови* в совокупности с внутривенным введением гепаринов, хотя роль и целесообразность использования последних сегодня при распространенном микротромбообразовании оспаривается [5, 7, 9, 10, 13, 14, 16, 45].

Стратегически важным представляется получение ответа на вопрос — какими компонентами или препаратами крови следует воспользоваться для получения оптимального ответа при проведении такой заместительной терапии? При этом речь не идет о ситуациях, требующих восполнения дефицита тромбоцитов, эритроцитов или отдельных факторов свертывания крови, как это происходит, например, при тромбоцитопении потребления, гемофилии или болезни Виллебранда. Анализу этого вопроса в значительной мере и посвящена настоящая публикация, где будут рассмотрены ряд компонентов и подходы к заместительной гемотрансфузионной терапии, а именно к использованию:

— свежезамороженной плазмы (криоплазмы);
— криосупернатантной плазмы (криосупернатанта);
— криоплазмы, ассоциированной с препаратом АТ III;
— обменного плазмафереза (с замещением объема удаляемой плазмы больного свежезамороженной плазмой — с препаратом АТ III или без него).

Кровь, как известно, представляет собой важнейшую интегрирующую систему, обеспечивающую обмен метаболитами и информацией между тканями и клетками, пластическую и защитную функции организма, при этом протекая по закрытому контуру, она контактирует со всеми органами. Общая поверхность капилляров человеческого организма составляет примерно 1000 $м^2$ [42]. Кровь можно рассматривать и как жидкую ткань, находящуюся в постоянном и строго регламентируемом движении. Ей присущи ряд компонентов и фракций, выполняющих различную роль в защите и поддержании постоянства внутренней среды человека (рис. 3). Внутрисосудистые (преимущественно внутривенные) инфузии компонентов крови (донорской, аутокрови) имели и продолжают иметь принципиальное значение для лечения многих патологических состояний в клинике — в хирургии, интенсивной терапии, анестезиологии, акушерстве и гинекологии, педиатрии и др. Для этого в России имеется и зарегистрирован достаточно широкий спектр препаратов, получаемых в предназначенных для этого условиях из стабилизированной цитратом крови [37, 39, 42]. В их числе находится плазма, являющаяся жидкой частью крови, лишенной гравитационным путем или фильтрацией клеточных элементов (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов). Нормальный объем плазмы составляет около 4% общей массы тела (40-45 мл/кг), а ее белки определяют коллоидно-онкотическое давление и баланс с гидростатическим давлением; они же поддерживают в равновесном состоянии систему свертывания крови и ферментные системы, противостоящие тромбообразованию. Кроме того, плазма обеспечивает баланс электролитов и кислотно-щелочное равновесие крови. Принципиально важно учитывать, что плазма являет собой источник всех факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов и компонентов фибринолитической системы, т.е. является средством восстановления нарушенного баланса про- и антикоагулянтных, а также фибринолитических резервов крови. Особое значение имеет **свежезамороженная плазма (СЗП)**, приготовленная в течение 6 часов после эксфузии крови при отделении от эритроцитов методами центрифугирования или афереза с помещением в низкотемпературный холодильник, обеспечивающем замораживание плазмы до температу-

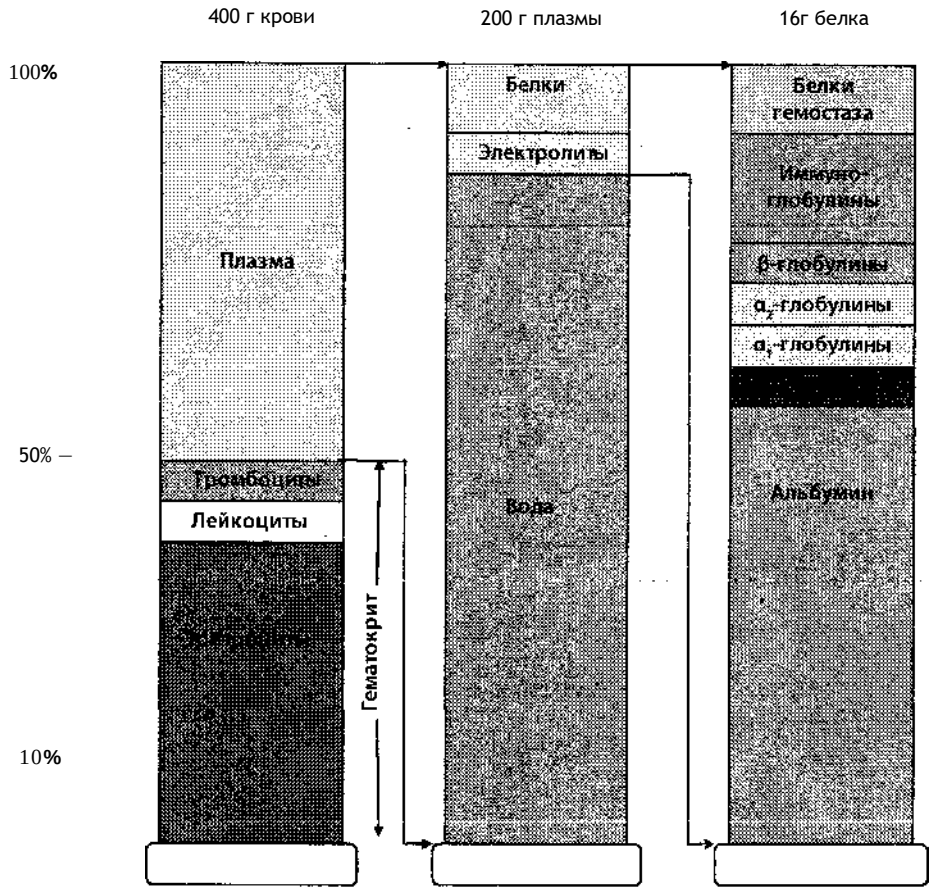


Рис. 3. Состав крови человека.

ры -30° С в течение 1 часа. Такой режим заготовки плазмы в соответстврш с действующими правилами (Совет Европы, United Kingdom Blood Transfusion Services/National Institute for Biological Standarts and Control, 2002) обеспечивает ее длительное (до года) хранение с высокой сохранностью всех отмеченных компонентов гемоста- тических реакций [2, 3, 5, 6,10, 52, 58, 67, 70, 78].

Начиная с 70-х годов XX века, отечественными специалистами была отмечена высокая эффективность массивных струйных трансфузий СЗП при заместительной терапии многих неотложных и терминальных состояний [2, 3, 10, 41, 45]. По оценке академика А.И. Воробьева предложение по использованию СЗП для лечения диссеминированного внутрисосудистого свертывания изменило всю стратегию борьбы с массивными кровопотерями в родах, во время операций и других критических состояниях. Благодаря этому были спасены тысячи жизней, в том числе во время техногенных и природных катастроф [17].

Объем СЗП, полученный методом центрифугирования из одной дозы крови (около 500 мл в смеси со стабилизатором), составляет ориентировочно от 200 до 250 мл. При проведении двойного донорского плазмафереза выход плазмы может составить 400-500 мл, а аппаратного плазмафереза — до 600 мл.

Технология трансфузий СЗП
(по З.С. Баркагану и А.И. Воробьеву [4, 9,16])

Внутривенно методом «быстрой капли» вводят в 1-3 приема до 1-2 л СЗП под контролем центрального венозного давления. Общая суточная доза варьирует в зависимости от клинической ситуации в пределах 800-4000 мл, но не менее чем 15-25 мл/кг массы тела. Поскольку СЗП является объемным кровезаменителем, ее количество должно быть учтено при расчете общего количества вводимых жидкостей (полиглюкина, крахмала и др.). Переливания СЗП должны всегда предшествовать трансфузиям эритроцитной

массы (если для последних имеются показания), в этом случае соотношение объемов этих сред должно быть не менее 3:1. Это связано с тем, что компоненты красной крови, не разбавленные плазмой и плазмозамещающими растворами, увеличивают блокаду микроциркуляции в органах-мишенях и способствуют углублению сладжа эритроцитов и синдрома полиорганной недостаточности.

Эта методика с небольшими вариациями используется повсеместно и рекомендуется всеми отечественными и зарубежными руководствами по трансфузиологии [32, 42, 59]. Отметим, что среди компонентов крови по объему применения в клинической практике СЗП занимает первое место в мире. Только в США ежегодно используется 1,8-2,0 млн. доз криоплазмы [38].

Существенным отличием отечественных рекомендаций по применению СЗП состоит в том, что в нашей стране постулируется необходимость возможно более раннего введения этого препарата, тогда как во многих зарубежных рекомендациях она назначается лишь при уже развившейся кровоточивости и гипокоагуляции (по стандартам американских патологов 1994 г. — при наличии удлинения показателя протромбинового времени свертывания или активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) в 1,5 раза и более от значений в контрольной нормальной плазме и выявлении менее 25% факторов свертывания) [37, 42]. Такая тактика, на наш взгляд, способна быть запоздалой реакцией, не всегда эффективной на фоне прогрессирования патологии и формировании полиорганной недостаточности.

В соответствии с Инструкцией по применению компонентов крови *(приказ Минздрава РФ от 25.11.2002 г. № 363)* показаниями для применения СЗП являются:

— острый синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), осложняющий течение шоков различного генеза (септического, геморрагического, гемолитического), или вызванный другими причинами (эмболия околоплодными водами, краш- синдром, тяжелые травмы с размозжением тканей, обширные хирургические операции, особенно на легких, сосудах, головном мозге, простате), синдром массивных гемотрансфузий;
— острая массивная кровопотеря (более 30% объема циркулирующей крови) с развитием геморрагического шока и ДВС-синдрома;
— болезни печени, сопровождающиеся снижением продукции плазменных факторов свертывания и, соответственно, их дефицитом в циркуляции (острый фульминантный гепатит, цирроз печени);
— передозировка антикоагулянтов непрямого действия (варфарин, варфарекс и др. кумарины);
— при выполнении терапевтического плазмафереза (с плазмозаменой) у больных с тромботической тромбоцитопенической пурпурой (болезнь Мошковиц), тяжелых отравлениях, сепсисе, остром ДВС-синдроме;
— коагулопетии, обусловленные дефицитом плазменных физиологических антикоагулянтов.

Наряду с этим трансфузии СЗП считаются малоэффективными при коррекции кровотечений у больных с тяжелыми заболеваниями печени — основным поставщиком про- и антикоагулянтов, где дозы криоплазмы должны быть резко увеличены (в 5 раз и более), что, однако, может приводить к проблемам, связанным с гиперволемией и опасностью интерстициального отека легких [42, 78].

Переливания СЗП могут рассматриваться и как потенциально тромбогенное внешнее воздействие, несмотря на сбалансированную систему в ней про- и антикоагулянтов и присутствие консерванта — цитрата натрия, связывающего ионы кальция и предотвращающего спонтанное фибринообразование [64]. Для снижения тромбогенности плазмы *in vivo* в соответствии с современными рекомендациями СЗП комбинируют с введениями малых доз гепарина— из расчета 1-2 тыс. МЕ на каждые 400-500 мл плазмы при отсутствии прямой угрозы усиления кровотечения [9].

Опыт нашей клиники показывает, что включение в терапию только гепарина даже в больших дозах (30-40 тыс. ед./сутки), хотя и облегчает течение заболевания и способствует ослаблению инфекционно-септического ДВС-синдрома, если в крови больных сохраняется еще достаточный уровень АТ III, но не обеспечивает деблокирования микроциркуляции в органах, мало влияет на интенсивность общего и локального про-

теолиза. Объясняется это известным феноменом неспецифического связывания гепарина с белками «острой фазы воспаления» — фибриногеном, С-реактивным белком, α_1- кислым глико протеидом и др., концентрация которых в крови и пораженных тканях при воспалительных и инфекционно-деструктивных процессах резко нарастает [11, 34, 45].

Подчеркнем, что при лечении острого и подострого ДВС-синдромов большинство авторов не прибегает к рекомендовавшейся ранее гепаринотерапии (путем длительных инфузий под контролем АПТВ или АЧТВ) [9]. В ряде рандомизированных исследований было показано, что гепаринизация в таких условиях нередко усиливает тенденцию к кровоточивости, не оказывая существенного влияния на течение и исходы ДВС-синдрома. Наряду с этим гепарин усиливает потребление в крови АТ III и в той или иной степени потенцирует агрегацию тромбоцитов [35, 57, 61, 68].

С другой стороны, обычный или низкомолекулярный гепарин в профилактических или лечебных дозах является основой лечения хронического ДВС-синдрома, протекающего с персистирующей гиперкоагуляцией, тромбинемией, блокадой микроциркуляции в органах и тромбозами магистральных сосудов, в частности, в онкологической практике и ортопедии [8, 15, 66].

В клинической практике используется также продукт переработки СЗП — криосупернатантная плазма (КСП), коагуляционный потенциал которой значительно снижен в процессе переработки. Ее получают после удаления по специальной технологии из донорской плазмы криопреципитата— смеси мало устойчивых к низкой температуре белков плазмы (криоглобулинов), в число которых входят фибриноген, фактор VIII, фактор Виллебранда и фибронектин [25].

Криоприцицитат достаточно широко применялся в мире и в России для профилактики или купирования кровотечений, обусловленных дефицитом фактора VIII и/или фактора Виллебранда (при гемофилии А и болезни Виллебранда), поскольку ранее были малодоступны очищенные препараты из крови или их рекомбинантные аналоги. Использование криосупернатанта как побочного продукта переработки плазмы для лечения больных стало возможным после публикаций об успешном применении этой фракции плазмы при тромботической тромбоцитопенической пурпуре и гемолитико-уремическом синдроме, в основе патогенеза которых лежит избыток высокомультимерных форм фактора Виллебранда, активирующих тромбоциты [37, 56, 60]. Этому способствовали также работы Елыкомова и соавт. [24, 26, 27, 28, 48], в которых была доказана высокая эффективность КСП при заместительной терапии у больных с инфекционно-септическим ДВС-синдромом, причем трансфузии этого компонента плазмы отличались низкой тромбогенностью и не требовали в большинстве случаев так называемого «прикрытия» гепарином. В немалой степени эти результаты лечения были обоснованы тем, что криосупернатант содержит по сравнению со СЗП в среднем в 1,9 раза меньшее количество фибриногена, в 5,6 раза меньшую активность фактора VIII, в 8,2 раза меньшее количество фактора Виллебранда и в 3,3 раза меньшее количество фибронектина при том, что в нем сохраняется активность физиологических антикоагулянтов и компонентов фибринолиза в сравнении с исходной, стабилизированной цитратом плазмой [24]. Близкие данные приводят и *Shehata et al* [77], согласно которым КСП обеднена фактором VIII и фибриногеном (концентация фактора VIII около 0,11 МЕ/мл, а уровень фибриногена может сохраняться до 70% от исходного). КСП имеет низкое содержание высокомолекулярных мультимеров фактора Виллебранда, но содержит металлопротеиназу этого фактора (ADAMTS-13), направленную на снижение мультимерности.

Несмотря на перспективность данного препарата крови, он пока не получил широкого распространения в отечественной трансфузиологии, поскольку потребность в криопреципитате в последние годы заметно снижается в связи с появлением на фармацевтическом рынке России очищенных вирусинактивированных факторов VIII и Виллебранда. В соответствии с принятым «Протоколом ведения больных. Гемофилия», утвержденным Министерством здравоохранения и социального развития РФ 30.12.2005 г., этот компонент плазмы крови не рекомендован для лечения больных гемофилией А [18]. Таким образом, сокращается и сырьевая база для производства КСП.

СЗП может иметь неодинаковые свойства в соответствии с состоянием здоровья доноров и особенностями воспроизведения технологии на производстве компонентов крови, пока отсутствуют общепринятые критерии гемостатических норм этого компонента крови (за исключением активности фактора VIII), однако ее состав в сравнении с КСП

более приближен в составу крови, и в ней в более полной мере соблюдается баланс всего спектра ферментативных систем, отвечающих за обеспечение гемостатических процессов, как в кровеносном русле, так и в ближайшем его микроокружении.

Таким образом, трансфузии СЗП остаются базисным и наиболее важным компонентом терапии ДВС-синдрома. Высокая эффективность этого метода лечения связывается, как указывалось выше, с восстановлением у больных антитромботического потенциала крови, замещением всех физиологических антикоагулянтов, факторов свертывания крови, компонентов фибринолиза, что является необходимой предпосылкой купирования процесса и деблокады микроциркуляции в органах при инфекционно-септических и других видах ДВС-синдрома.

На какие лечебные и технологические недостатки СЗП можно обратить внимание лечащему врачу:

Вероятность потенциальной вирусинфицированности крови донора — источника СЗП.

Отсутствие стандартизированного подхода к качеству про- и антикоагулянтных параметров СЗП, которые, как известно, могут варьировать в зависимости от состояния здоровья донора. Критериями качества СЗП сегодня являются: концентрация общего белка — не менее 60 г/л, уровень гемоглобина — менее 0,05 г/л, уровень калия — менее 5 ммоль/л. При этом уровень печеночных трансаминаз должен быть в пределах нормы. В отдельных случаях регламентируется активность фактора VIII, которая в размороженной СЗП должна быть не менее 0,7 МЕ/мл, по крайней мере, в 75% анализируемых доз [37, 59].

Вариабельность процедуры размораживания и согревания СЗП (до +37° С) перед парентеральным введением больному, влияющей на ее качественные показатели (активность факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов, участников фибринолитических реакций и др.).

Возможность избыточной перегрузки кровеносного русла этим объемным кровезаменителем с вероятностью развития интерстициального отека легких (легочного дистресс-синдрома взрослых), что исключается тщательным контролем гемодинамических показателей и центрального венозного давления.

Кроме того, следует учесть возможность развития аллергических реакций и анафилаксии, а также гемолиза вследствие переливания антител к групповым антигенам эритроцитов, особенно А и В.

Наиболее тяжелым риском при переливании СЗП признается возможность передачи вирусных и бактериальных инфекций от донора реципиенту [37, 42]. В мире накоплен опыт клинического применения двух видов вирусинактивации плазмы — воздействие метиленовым синим и видимым светом или обработка методом «растворитель-детергент» [81].

Вероятность вирусной контаминации СЗП заметно снижена принятой в России программой карантинизации плазмы крови, способной в большинстве случаев учесть варианты серонегативного ответа в ранние сроки заражения доноров возбудителями вирусного гепатита и ВИЧ. В этом отношении представляется также перспективной для широкого использования в профильных учреждениях здравоохранения недавно зарегистрированная в Российской Федерации технология инактивации вирусов в образцах донорской плазмы с применением системы «Терафлекс-МБ-Плазма» (ФС-2007/195 от 18.09.2007), предусматривающая последовательное проведение лейкофильтрации, смешивание с красителем метиленовым синим и облучение световым излучением с длиной волны в области максимума адсорбции красителя (590 нм). При этом активация молекул красителя ведет к образованию активных форм кислорода, оказывающих повреждающее действие на генетический аппарат оболочечных и безоболочечных вирусов с инактивацией их репликации.

Продолжая рассмотрение обозначенных проблем, связанных с лечебным применением СЗП, отметим решающее влияние на активность содержащихся в ней факторов свертывания и антикоагулянтов режима подготовки плазмы к трансфузиям. Работа Воробьевой и соавт. [21] показала, что принятая в России технология размораживания СЗП методом простого теплообмена на водяной бане при температуре +37° С приводит к снижению ее антикоагулянтного потенциала в среднем на 30%, несмотря на первоначальный оптимальный режим замораживания и хранения криоплазмы, причем разброс активности АТ III в отдельных образцах СЗП может составлять от 30 до 140%(!). Использование микроволновых подогревателей уменьшает время размораживания до 2-3 минут, однако их применение ограничивает серьезный недостаток — образование «горячих» точек в содержимом контейнера вследствие интерференции волновых процессов, что приводит к частичной денатурации белков плазмы [37]. Оптимальным признается получение СЗП путем размораживания

плазмы методом мембранного воздушного теплообмена. Однако, поскольку лечебные учреждения нашей страны не располагают отечественными устройствами для этой цели, перспективным может быть использование импортных, зарегистрированных в России приборов, к примеру, линейки SAHARA (Transmed), обеспечивающих размораживание и подогревание компонентов крови нагретым форсированным воздушным потоком. Важно учитывать также, что пластиковые мешки с замороженной плазмой отличаются высокой хрупкостью и оттаивать их необходимо таким образом, чтобы исключить микробную контаминацию.

Одна из главных ошибок применения СЗП в терапии ДВС-синдрома состоит в использовании ее в недостаточных объемах, а также замедленных темпов внутривенного введения. Сотрудницей нашего центра Зяблицкой показано, что в тех лечебных учреждениях, где СЗП применялась по 350-750 мл/сутки, летальность при остром и подостром ДВС-синдроме оказалась вдвое выше, чем в тех случаях, где препарат вводился внутривенно по 800-1500 мл и более [31]. Для подтверждения этого тезиса было выполнено ретроспективное исследование эффективности заместительной терапии различными дозами СЗП, результаты которого приведены ниже.

Под наблюдением находились 102 больных с ДВС-синдромом (в возрасте от 15 до 68 лет) из 7 клиник г. Барнаула (табл. 2). Учитывались основные клинические проявления этого синдрома (нарушения функции жизненно важных органов, кровоточивость), показатели летальности, оценивалась динамика активности физиологических антикоагулянтов, а также уровня плазминогена и D-димера по методам, описанным в руководстве по диагностике нарушений гемостаза [12].

Из анализа частоты основных клинических проявлений у этих больных при разной интенсивности плазмотрансфузий (рис. 4) становится ясно, что использование СЗП в объеме 300-750 мл/сутки достоверно чаще сопровождалось полиорганной недостаточностью и кровотечениями, что указывает в пользу более тяжелого течения ДВС-синдрома.

Таблица 2

Данные о распределении обследованных групп больных по этиологии ДВС-синдрома

Группы больных	Число наблюдений	
	абс. число	%
1. Инфекционно-септический ДВС-синдром, в том числе при:	68	66,7
— сепсисе	16	15,7
— пневмонии	38	37,2
— пиелонефрите и паранефрите	10	9,8
— инфицированной травме	2	2,0
— остром эндометрите	2	2,0
2. Акушерский ДВС-синдром, в том числе при:	13	12,7
— эклампсии	5	4,9
— антенатальной гибели плода	8	7,8
3. ДВС-синдром при ожоговой болезни в стадии ожогового шока и токсемии	13	12,7
4. Послеоперационный и посттравматический ДВС-синдром	8	7,9
Всего:	102	100,0

Это подтвердил и учет исходов заболевания в течение первого месяца с начала острого периода (табл. 3): в группе больных с ДВС-синдромом, получавших заниженные дозы СЗП, летальность оказалась в 2,4 раза большей ($p<0,05$) в сравнении с группой, где помимо влияния всех привходящих факторов (тяжесть состояния, раннее начало лечения, адекватность антибиотикотерапии, особенности оперативного вмешательства), проводилась адекватная по объему криоплазменная терапия.

В рамках этого исследования представляла интерес динамика параметров гемостаза до и после проведенного лечения (через 6-9 дней от начала

Таблица 3

Прогностическое значение трансфузий разных доз СЗП у больных с острым и подострым ДВС-синдромом

Исходы	Трансфузии СЗП (300-750 мл/сутки)		Трансфузии СЗП (800-2000 мл/сутки)	
	абс. число	%	абс. число	%
Благоприятный	**47**	**75,8**	**36**	**90,0**
Летальный	**15**	**24,2**	**4**	**10,0**
Всего:	**62**	**100,0**	**40**	**100,0**

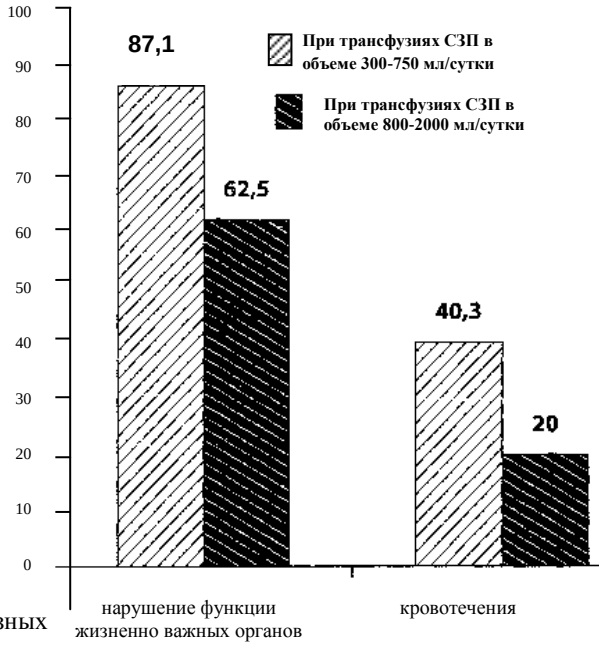


Рис. 4. Частота основных клинических проявлений у больных с ДВС-синдромом, получавших различные дозы СЗП.

комплексной терапии, включавшей трансфузии разных объемов СЗП). В соответствии с полученными данными (табл. 4), исходные нарушения были примерно одинаковы в обеих группах наблюдений. В то же время у пациентов, получавших 300-750 мл СЗП в сутки, активность АТ III повышалась в среднем лишь на 17,3% и оставалась сниженной у 29,0% больных, тогда как после ежедневных трансфузий СЗП в объеме 800-2000 мл/сутки эта активность увеличивалась в среднем на 40,2% и достигла уровня нормальных значений (>80%). Такие же закономерности

Таблица 4

Динамика активности АТ III, системы протеина С, уровня плазминогена и D-димера у больных с ДВС-синдромом при различных исходах

Исходы	Методы исследования	Этапы обследования				P_{1-2}
		до начала трансфузий СЗП (1)		через 6-9 дней от начала лечения (2)		
		X/P	± m	X/P	± m	
Благоприятный (А)	АТ III (%)	61,0**	2,9	92,7*	2,6	<0,001
	Нарушения в системе протеина С, нормализованное отношение	0,63**	0,02	0,80**	0,02	<0,001
	Плазминоген (%)	56,4**	2,0	83,6**	4,2	<0,001
	D-димер (нг/мл)	990,0**	151,5	400,0*	66,9	<0,001
Летальный (Б)	АТ III (%)	58,1**	3,6	66,3**	5,0	<0,2
	$P_{А-Б}$	>0,5		<0,001		
	Нарушения в системе протеина С, нормализованное отношение	0,60**	0,03	0,61**	0,03	>0,5
	$P_{А-Б}$	>0,5		<0,001		
	Плазминоген (%)	48,5**	4,0	53,0**	5,9	<0,5
	$P_{А-Б}$	<0,1		<0,001		
	D-димер (нг/мл)	1750,0**	125,0	715,0**	75,0	<0,001
	$P_{А-Б}$	<0,001		<0,01		

*Примечание: *p<0,05; **p<0,001 — различия достоверны по сравнению с контролем.*

наблюдались нами и по сдвигам в системе протеина С и фибринолиза (уровню плазминогена).

Анализируя по той же таблице изменения содержания в плазме крови D-димера, можно отметить, что уровень этого маркера тромбинемии и реализованого фибринолиза до начала терапии СЗП наиболее высок в группе наблюдений с неблагоприятным исходом и минимален — у выживших больных после окончания трансфузий СЗП. Сохранение высокого уровня D-димера после такого курса криоплазменной терапии (наряду с этиотропной и др.) может свидетельствовать о недостаточном восстановлении (деблокаде) микроциркуляции жизненно важных органов и тяжести состояния.

Приведенные выше данные свидетельствуют в пользу того, что у больных с ДВС степень снижения активности АТ III и концентрации плазминогена, а также стабильно высокий уровень D-димера в плазме крови прямо связаны с эффективностью криоплазменной терапии и выраженностью органной недостаточности. Недостаточные по объему трансфузии СЗП (300-750 мл/ сутки) оказались прогностически неблагоприятными, поскольку не было достигнуто устранение дисбаланса плазменных протеолитических систем. Обратим внимание также на то, что 4 из 19 умерших в составе комплексной терапии получали достаточные по объему количества плазмы (15-25 мл/кг массы в сутки), однако их состояние прогрессивно ухудшалось, и активность плазменного АТ III на этом фоне оставалась весьма низкой — в диапазоне от 48% до 61%. Дальнейшее наращивание объемов трансфузий плазмы в этих случаях рассматривалось как весьма проблематичное, учитывая нарастающие острую почечную и дыхательную недостаточность, а также опасность развития интерстециального отека легких.

Соответственно, нельзя быть уверенным в том, что назначая расчетные дозы СЗП (15-20 или 25 мл/кг массы тела в сутки), лечащий врач может гарантировать их достаточную лечебную эффективность. Мы считаем, что важным дополнением антикоагулянтных свойств криоплазмы может быть достигнуто не гепарином, обладающим рядом негативных последствий своего применения, а природным плазменным или рекомбинантным препаратом АТ III. С этой целью перспективно, на наш взгляд, применение зарегистрированного в России препарата «Антитромбин III человеческий» (Baxter), получаемого из донорской плазмы.

Существует точка зрения и рекомендации отечественных специалистов, согласно которым при лечении острого ДВС-синдрома трансфузии СЗП могут быть заменены парентеральными введениями препарата АТ III [20,40]. Об этом же свидетельствуют и работы зарубежных авторов, показавших в целом, что с помощью данных препаратов удается повысить до нормального уровня концентрацию АТ III в крови как у животных в эксперименте, так и у больных с септическим ДВС-синдромом [53, 63, 75, 80]. Показательно в этой связи, что при депрессии активности АТ III в плазме крови увеличивается как частота возникновения сепсиса у хирургических больных, так летальность [54]. Некоторые авторы считают интенсивное потребление плазминогенна, его активаторов и АТ III в определенных клинических ситуациях ранними симптомами септицемии [55].

Тем не менее, мы считаем подход к обособленному назначению инфузий АТ III для лечения острого ДВС не вполне верным, учитывая, что плазменные факторы свертывания крови и ингибиторы системы гемостаза эффективно функционируют лишь в определенном микроокружении. Например, активность факторов IX, X, протеина С, АТ III в присутствии своих кофакторов (соответственно факторов VIII, V, протеина S, гепаран- сульфата) возрастает в десятки тысяч раз [22]. Не менее значима в этом контексте и роль так называемых микровезикул — мембранных фрагментов, отделяемых при активации и апоптозе тромбоцитов, эндотелиоцитов и моноцитов, и обладающих направленной на гемостаз активностью (участие в сборке факторов свертывания в теназный (IXa с VIIIa) и протромбиназный (Xa с Va) комплексы, инактивации факторов Va и VIIIa) [30]. Кроме того необходимо учитывать важное участие в формировании противосвертывающего потенциала плазмы и других, сдерживающих свертывание крови антикоагулянтов — протеинов С и S, ингибитора тканевого пути активации свертывания крови (TFPI), тромбомодулина и др.

Применение препарата АТ III представляется логически и патогенетически обоснованым при изолированном его дефиците, например, при наследственном дефиците, гепарин-индуцированном снижении активности АТ III, повышенной потере при нефротическом синдроме и ряде других, но несомненно, что преимущество его изолированного использования утрачивается при сочетанном или

комбинированном дефиците плазменных компонентов крови, ответственных за сдерживание и диссеминацию внутрисосудистого микротромбообразования — ДВС-синдрома.

Остановимся более подробно на строении, роли и месте АТ III в защитных реакциях организма (рис. 5), участии его в предохранении от диссеминации свертывания крови, ограничении воспалительного ответа и блокировании ангиогенеза, как одного из решающих факторов опухолевой прогрессии.

По химической структуре АТ III представляет собой одноцепочечный α_2-гликопротеид с молекулярной массой 58,2 кДа, структура и функция которого позволяет отнести его к семейству серпинов — ингибиторов сериновых протеиназ [29]. Синтез данного белка происходит в эндотелии кровеносных сосудов и гепатоцитах, при этом содержание его в плазме составляет 140-200 мкг/мл, а период его полужизни в физиологических условиях (в случае нормокоагуляции и отсутствии лечебной гепаринизации) составляет 48-72 часа. Известно, что сам по себе АТ III обладает сравнительно низкой, или, как принято обозначать, «прогрессивной» антикоагулянтной активностью, добавление же к нему гепарина усиливает ингибиторную способность (по образованию комплекса тромбин-антитромбин) в 1000-5000 раз [79].

АТ III относится к наиболее значимым ингибиторам системы свертывания крови, поскольку на его долю приходится около 80% общего антикоагулянтного потенциала. Интересно, что количества находящегося в крови здорового человека АТ III достаточно, чтобы ингибировать в три раза больше тромбина, чем может образоваться из циркулирующего в крови предшественника — протромбина (фактора II). Несмотря на это, при снижении активности АТ III в плазме ниже 70% риск патологического тромбообразования прогрессивно возрастает, и он тем больше, чем значительнее дефицит этого антикоагулянта. Падение активности АТ III до уровня 30-50% от физиологической нормы приводит уже к генерализованной, ничем не сдерживаемой тромбинемии и массивным тромбозам в сосудах любого калибра. В этом случае период полужизни АТ III резко укорачивается и может составлять лишь несколько часов (особенно в присутствии лечебных доз гепарина). Этим обуславливается механизм формирования так называемых парадоксальных тромбозов — когда продолжение гепаринотерапии приводит не к сдерживанию коагуляции, а к выраженному тромбообразованию.

Итак, рассматриваемый антикоагулянт автономно или в комплексе с гепарином (или гепарансульфатом) ингибирует активированные факторы II, X, IX, XI, XII и XIII, калликреин и плазмин [29, 51], при этом решающее значение имеет ограничение активности факторов IIa (тромбина) и Xa (рис. 6). Наиболее эффективно АТ III «работает» в токе крови, поскольку в составе



Рис. 5. Роль антитромбина III в защитных реакциях организма.

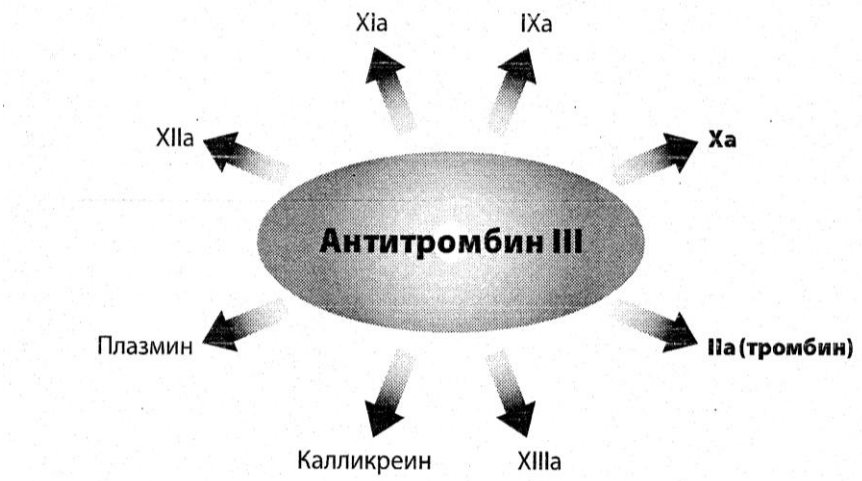


Рис. 6. Мишени антитромбина III при регуляции гемостатических реакций.

протромбиназного комплекса на фосфолипидной поверхности мембран клеток крови фактор Xa лучше защищен от ингибирования комплексом гепарин-АТ III. Взаимодействие АТ III с экзогенным гепарином, а также с отрицательно заряженными гликозаминогликанами, такими как гепарансульфат, входящий в структуру гликокаликса на поверхности эндотелиальных клеток, на короткое время формирует мощный антикоагулянтный щит. В последующем, после образования эквимолярного (1:1) комплекса тромбин-антитромбин (ТАТ) гепарин может освобождаться для организации других аналогичных комплексов. В то же время в составе ТАТ тромбин и АТ III быстро теряют свою активность, а сам комплекс из кровеносного русла элиминируется клетками печени в течение нескольких минут [1,74].

Наряду с блокированием активации свертывания в плазменном звене гемостаза, АТ III проявляет себя и сдерживающим фактором воспалительных реакций, в частности, путем блокирования тромбин-опосредованной фиксации и перемещения (роллинга) нейтрофилов и моноцитов по поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. Кроме того, он способствует синтезу простациклина (PG I_2) эндотелиоцитами, тем самым выступая, по сути, как эндотелиопротектор, так и ингибитор воспалительных клеточных реакций (рис. 7, 8) [73].

Возможно, важная и по достоинству не оцененная роль АТ III, особенно в комплексе с низкомолекулярными гепаринами, заключается и в подавлении ангиогенеза, в связи с блокированием им пролиферации эндотелиальных клеток капилляров кровеносного русла [79]. Эти функции АТ III еще должны быть осмыслены, тем более учитывая данные о соотношении распределения этого антикоагулянта в крови, эндотелии сосудов и ближайшем периваскулярном пространстве (рис. 9). Мы полагаем, что целесообразность присутствия АТ III за пределами сосудистой зоны определяется физиологическим механизмом обеспечения метаболизма и доставки кислорода в окружающие микрососуды ткани. Повышенная проницаемость сосудистой стенки для плазмы и ее компонентов (прежде всего фибриногена) наряду с депрессией **внесосудистого** АТ III способна приводить к патологическому фибриновому блоку в толще тканей. Последний, создавая зону обсервации, выполняет важную роль в отграничении патологического процесса от здоровых и функциональных тканей, фиксации патогенного начала, однако с другой стороны, приводит к гипоксии и нарушениям обмена в зоне патологического очага.

Рассматривая противосвертывающий потенциал плазмы крови, нельзя обойти и вторую по значимости физиологическую антикоагулянтную систему — систему протеина С, все компоненты которой в полной мере присутствуют в криоплазме. Данный механизм ограничения фибринообразования включает в себя протеин С, его кофактор — протеин S, тромбомодулин (мембранный белок, вырабатывающийся эндотелиоцитами кровеносных сосудов) и рецептор протеина С на эндотелиальных клетках. Протеины С и S — витамин-К-зависимые белки плазмы, синтезирующиеся в клетках печени.

Известно, что активированный протеин С (АПС) в присутствии протеина S способен блокировать и лизировать факторы Va и VIIIa, расположенные на мембране активированных тромбоцитов, а также

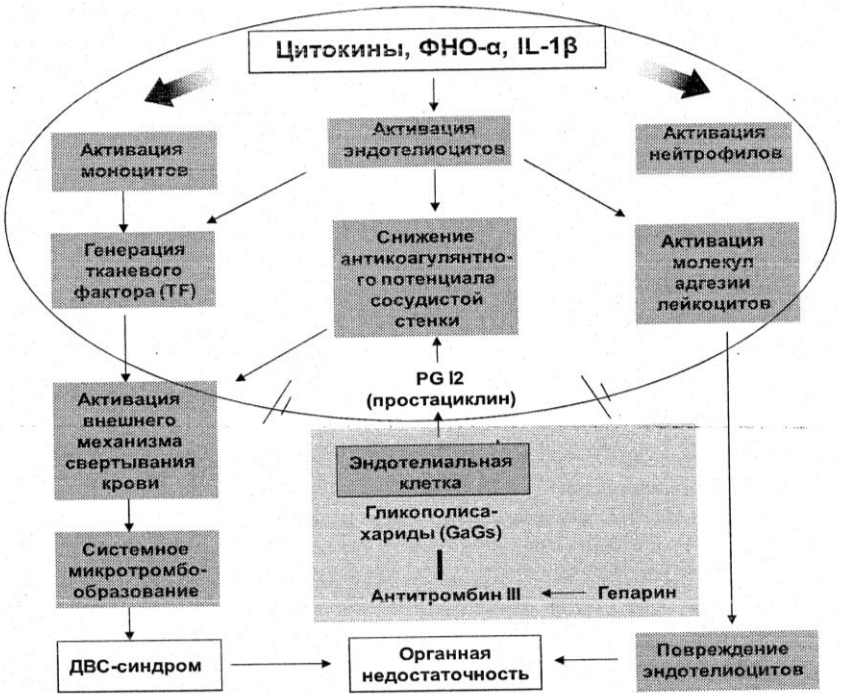


Рис. 7. Антитромбин III снижает лейкоцит-индуцированное повреждение эндотелиальных клеток кровеносных сосудов и предупреждает патологические сдвиги при сепсисе и шоке [79].

ингибитор тканевого активатора плазминогена (PAI-1). Нейтрализация последнего приводит к усилению фибринолитических реакций, что увеличивает противотромботические воздействия. Основная активация протеина С происходит на поверхности эндотелиальных клеток, где он связывается со своим рецептором и взаимодействует с комплексом тромбин-тромбомодулин. Это уникальный механизм нейтрализации тромбина, поскольку результатом реакции является активация протеина С, а тромбин, входящий в указанный комплекс, необратимо теряет способность к превращению фибриногена в фибрин [12, 29].

Активность протеина С в плазме крови здоровых людей находится в пределах 75-125%, в то же время значительное снижение его активности при сепсисе приводит к тромбозам и периферическим некрозам тканей конечностей. В связи с этим при сепсисе и злокачественной пурпуре новорожденных, когда уровень протеина С снижен изначально ввиду физиологических особенностей функционирования печени ребенка, считается целесообразным внутривенное введение концентрата протеина С (препарат «Цепротин»). Для лечения тяжелого сепсиса ряд авторов рекомендует также применение активированной формы протеина С (препарат «Зигрис») [65, 72].

дефицита АТ III с применением его очищенного препарата, а равным образом и дефицита протеина С, не отвечает задаче восполнения всего спектра про- и антикоагулянтов, а также компонентов фибринолитической системы при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови. Мы считаем, что устранение дисбаланса всех указанных протеолитических систем, отвечающих за гемостаз, может быть достигнуто при ДВС лишь в случае систематических трансфузий достаточных объемов СЗП. Такая тактика позволит врачу не только исправить диспропорции во взаимодействиях ферментативных систем крови, но и установить новый уровень баланса, способного обеспечить как сохранение жидкого состояния крови в неповрежденных сосудах, так и остановку кровотечения при повреждениях и травмах. Однако, учитывая потенциальный риск перегрузки сосудистого русла массивными введениями криоплазмы, считаем перспективным при заместительной терапии острого ДВС-синдрома использовать СЗП не изолированно, а в смеси с препаратом АТ III. Такой подход дает принципиальную возможность:

1. Обеспечить возмещение всего спектра плазменных участников гемостатических реакций.

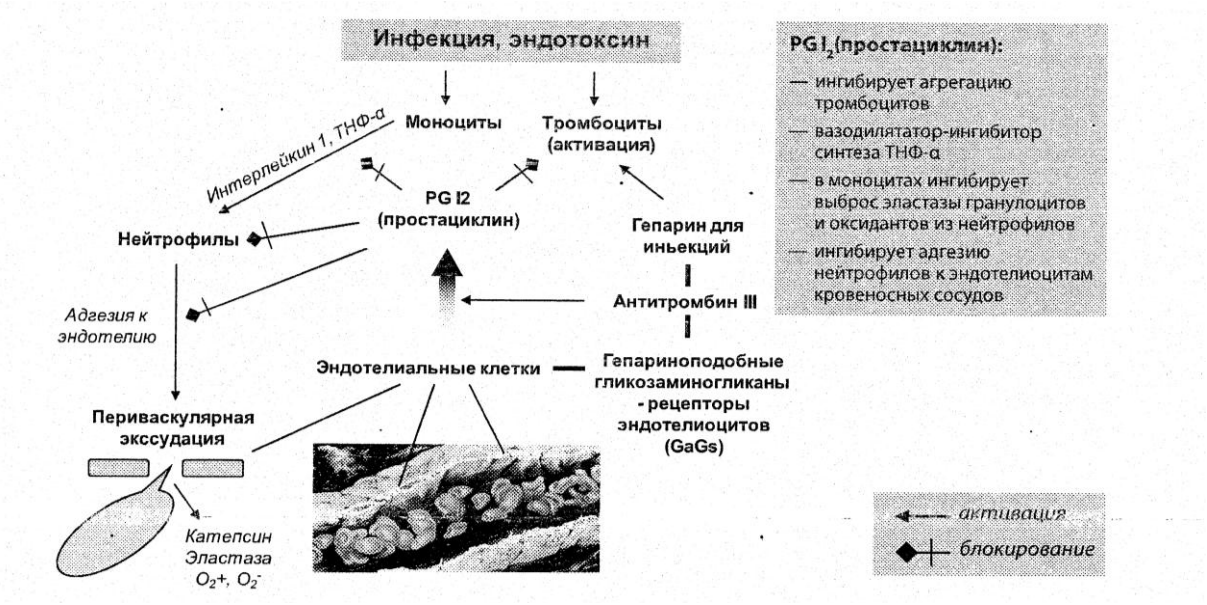


Рис.8. Антитромбин III предупреждает активацию лейкоцит-опосредованного повреждения кровеносных сосудов легких посредством стимуляции синтеза и экспрессии сосудистой стенкой простациклина (PG 12) [73].

Схема кровеносного сосуда приведена по H. Schmid-Schonbein, G. Grunau, H. Brauer [Exempla Haemorheologica, 1978].

2. Снизить трансфузионную нагрузку на циркуляцию и исключить вероятность интерстициального отека легких при массивных трансфузиях (1-2 л/сутки) и высоком центральном венозном давлении (в т.ч. при острой почечной недостаточности).
3. Уменьшить риск вирусинфицирования из-за уменьшения числа требуемых доз криоплазмы и гарантированной двойной вирусинактивации препарата АТ III.
4. Ускорить и повысить эффективность заместительной терапии (препарат АТ III не требует размораживания, и активность его высоко стандартизирована, в отличие от СЗП).

Таким образом может быть обеспечено негепариновое усиление антикоагулянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемотрансузионной терапии острого ДВС-синдрома.

Можно отметить, что предлагаемая технология более экономична в сравнении с использова нием для заместительной терапии только препа- рата АТ III, поскольку доза последнего в смеси с криоплазмой может существенно снижаться. В частности отметим, что в соответствии с Ин- струкцией к препарату «Антитромбин III чело- века» (Baxter) с фасовкой на 500 и 1000 МЕ (соот- ветствующей количеству АТ III в 500 или 1000 мл плазмы крови), при ДВС-синдроме доза антико- агулянта определяется необходимостью восста- новления АТ III до 120% активности (от уровня средней нормы). Наставлениями к использованию препарата предусмотрено, что 1 МЕ препарата на 1 кг массы тела повышает активность АТ III приблизительно на 1%. С учетом этого, в начале лечения рекомендуемая активность АТ III составляет 120%, затем она поддерживается на уровне выше 80%. Таким образом, требуемую для введения дозу препарата АТ III можно рассчитать по формуле: *Доза АТ III (МЕ) = Желаемый рост активности АТ III (%) х кг массы тела.*

В соответствии с предлагаемой нами тактикой традиционные дохы СЗП (из расчета 15-25 мл/кг массы тела) могут быть уменьшены вдвое, а количество АТ III для инфузий подбирается так, чтобы его расчетная активность в крови больного была на уровне около 100%.

Приведем пример таких расчетов. Для пациента массой 75 кг с активностью АТ III в плазме крови 60% дефицит антикоагулянта составляет: 100%-60% = 40%.

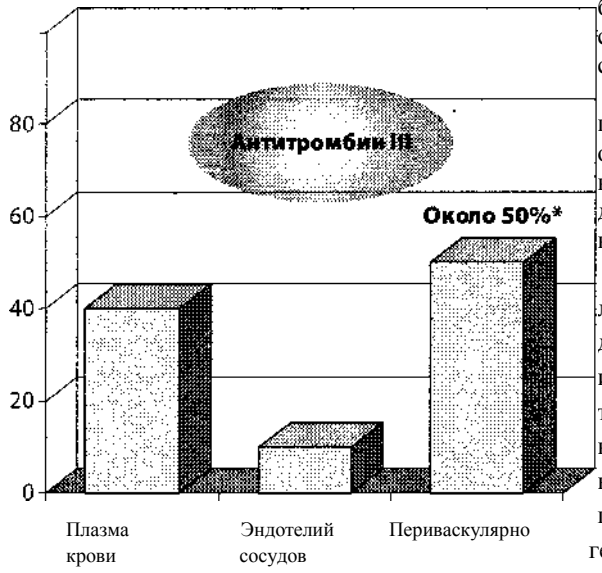


Рис. 9. Распределение антитромбина III в крови и тканях [73].
*Примечание: * — по мнению авторов статьи данный факт заслуживает особого внимания и должен стать предметом исследований.*

Следовательно, с учетом массы тела, дефицит активности АТ III равен 40% х 75 кг = 3000 МЕ.

Суточная доза СЗП (мл) = 10 мл/кг х 75 кг=750 мл (что в пересчете, принимая активность АТ III в плазме за 100%, ориентировочно составляет 750 МЕ активности АТ III).

Суточная доза АТ III (МЕ) = Дефицит актив ности АТ III у больного (МЕ) - Активность АТ III в составе переливаемой криоплазмы (МЕ).

В нашем примере эта разница составляет 3000 МЕ - 750 МЕ = 2250 МЕ.

Контроль такой терапии по динамике активности АТ III в плазме крови больного должен проводиться в первые 1-3 дня лечения через 6-12 часов, поскольку период его полужизни может быть уменьшен до нескольких часов. Рекомендуемый интервал введения антикоагулянта – 4-6 часов.

ПЛАЗМАФЕРЕЗ ПРИ ДВС-СИНДРОМЕ

Ввиду того, что в патогенезе многих септических заболеваний играют роль развитие синдрома ДВС, нарушение реологических свойств крови и микроциркуляции, многие авторы для купирования этих процессов применяли лечебный плазмаферез. При этом отмечено более достижимое купирование ДВС-синдрома после сеансов лечебного плазмафереза у больных с почечной, печеночной недостаточностью, сепсисом, ревматоидным артритом и рядом других состояний [19, 44, 46].

Тем не менее, некоторые авторы применение плазмафереза при гнойно-септичесих состояниях ограничивают проявлениями синдрома полиорганной недостаточночти, рекомендуя его в случаях доминирования печеночной и печеночно-почеченой недостаточности [38,39].

Современными показаниями для проведения лечебного плазмафереза, обладающего выраженными детоксикационным, реокорригирующим и иммуномодулирующим действиями, являются тяжелая эндогенная интоксикация, острая почечная недостаточность, гепато-ренальный синдром. При краш-синдроме, ожоговом и сеп- сическом шоке плазмаферез способствует стабилизации гемодинамики и вместе с гемодиализом является средством профилактики и терапии острой почечной недостаточности. Элиминация плазмы способствует удалению всех токсичных веществ, накапливающихся при указанных осложнениях перенесенной травмы и операционного периода: эн до- и экзотоксинов, продуктов анаэробного метаболизма, паракоагуляции, перекисного окисления липидов, распада форменных элементов крови и миофибрилл, биологически активных веществ, цитокинов и других субстанций [9, 19].

Обычно удаляемый объем плазмы крови при дискретном плазмаферезе замещается физиологическим раствором хлорида натрия или раствором альбумина для компенсации потери белка. Вместе с тем, при инфекционно-септических процессах при стабильной гемодинамике и низком риске генерализации инфекции полезным представляется проведение так называемого обменного плазмафереза, когда объем удаляемой плазмы замещается криоплазмой, содержащей проферменты и **PIX** естественные ингибиторы в полном наборе. Оптимальные условия процедуры:

— не менее 4-5 сеансов на курс лечения;
— удаление до 1200 мл плазмы за один сеанс;

замена *Уз-*^{3}/4 объема удаляемой плазмы криоплазмой с введенным в нее гепарином (из расчета 1-2 тыс. МЕ на каждые 400-500 мл СЗП), оставшийся объем замещается сочетанием коллоидных и кристаллоидных растворов. При использовании данной технологии со-трудниками клиники пульмонологии Алтайского государственного медицинского института была показана высокая эффективность комплексного

лечения гнойно-деструктивных заболеваний легких сочетанием дискретного плазмафереза с криоплазменно-антиферментным комплексом [36, 43]. Мы считаем, что обменный плазмаферез имеет хорошие клинические перспективы, позволяя проводить не только детоксикацию организма больного, но и обеспечивать восстановление уровня всех плазменных участников гемостатических реакций как непременное условие адекватной патогенетической терапии ДВС- синдрома. При этом также возможен описанный нами выше маневр с препаратом АТ III и СЗП.

Таким образом нам видятся новые горизонты в возможностях заместительной терапии диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови препаратами плазмы крови, в том числе с использованием экстракорпоральных воздействий. Дальнейшие сравнительные исследования помогут получить клинические доказательства их перспективности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов ИИ., Тлепшуков И.К. Физиология системы гемостаза. —* М., *1995. — 175 с.*
2. *Баркаган З.С. К обоснованию криотрансфузионной терапии тромбозов, ДВС-синдромов, терминальных состояний // В кн: Новое в гематологии и трансфузиологии. Тез. докл. II съезда гематологов и трансфузиологов Узбекистана. — Ташкент, 1983. —* С. *223-225.*
3. *Баркаган З.С. Проблемы терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания // Тер. архив — 1983. — № 12. — С. 124-125.*
4. *Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. — М, 1988. — 528 с*
5. *Баркаган З.С. Лечение синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // В кн.: Справочник практического врача, под ред. А.И. Воробьева. — М.: Медицина, 1990. — Т. 1. —* С. *71-74.*
6. *Баркаган З.С. Узловые вопросы комплексной терапии острого и подострого ДВС синдрома // Вестник интенсивной терапии. —1992. — Т. I. — № 1.—* С. *11-17.*
7. *Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС синдрома Н Materia Medica. — 1997. — №1 (13).— С. 5-14.*
8. *Баркаган З.С. Нарушения гемостаза у онкогематологических больных // В кн.: Клиническая онкогематология. Руководство для врачей под редакцией М.А. Волковой. — М.: Медицина, 2001. — С. 469-478.*
9. *Баркаган З.С. Гемостаз // В кн: Руководство по гематологии в 3 т. Том 3, под редакцией А.И. Воробьева. 3-е издание, переработанное и дополненное. — М.; Ньюдиамед, 2005. — С. 9-147.*
10. *Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. Современные проблемы диагностики и патогенетической терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Тер. архив. — 1979. — № 9. — С.11-18.*
11. *Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. и соавт. Механизмы гепаринорезистентности и их клиническое значение // Тер. архив. — 1982. —№ 8. — С. 77-82.*
12. *Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед, 2001. — 296 с.*
13. *Баркаган З.С., Момот А.П. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома // Вестник гематологии. — 2005. — Т. 1. — № 2. — С. 5-14.*
14. *Баркаган З.С., Шойхет Я.Н. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах // Гематология и трансфузиология. — 1989. — № 10. — С. 8-12.*
15. *Баркаган З.С., Шилова А.Н., Ходоренко С.А. Антитромботическая профилактика и терапия в онкологии // Бюллетень сибирской медицины. — 2003. — № 3. - С. 9-17.*
16. *Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулутко Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. — М.: ГОЭТАР-МЕД, 2001. — 176 с.*
17. *Воробьев А.И., Ленская Р.В. К сорокалетию журнала «Гематология и трансфузиология» // Гематология и трансфузиология. — 1996. — Т. 41. — № 6. —* С. *3-6.*
18. *Воробьев А.И., Плющ О.П., Баркаган З.С., Андреев Ю.Н., Буевич Е.И., Кудрявцева Л.М., Копылов К.Г., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю., Мамонов В.Е., Селиванов Е.А., Шарыгин СЛ., Вдовин В.В., Свирин П.В.,Жулев Ю.А., Воробьев П.А., Лукъянцева Д.В. Протокол ведения больных. Гемофилия. Утвержден зам. министра здравоохранения и социального развития РФ В.И. Стародубовым 30.12.2005 г. — М.: Издательство «НЬЮДИАМЕД», 2006. — 120 с.*
19. *Воробьев П.А. Прерывистый лечебный плазмаферез. — М.: Ньюдиамед-АО, 1998. — 204 с.*
20. *Воробьева Н.А., Е.Л. Непорада, О.В. Турундаевская, Г.Н. Мельникова. Место концентрата антитромбина III в интенсивной терапии ДВС-синдрома // Анестезиология и реаниматология. — 2007. — № 2. —*С. *42-44.*
21. *Воробьева Н.А., Солдатенко Н.В., Голубева Е.Н. К вопросу об эффективности размораживания донорской плазмы в медицине критических состояний // Омский научный вестник. — 2005. — № 1. — С. 98- 100.*

УПРАВЛЕНИЕ ГЕМОСТАЗОМ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ. АРГУМЕНТЫ ЗА И ПРОТИВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОДАВЛЕНИЯ ФИБРИНОЛИЗА В ПРОФИЛАКТИКЕ И КУПИРОВАНИИ МАССИВНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ

УДК 617.3:616-03:616-092

А. П. Момот[1,2], Я. Н. Шойхет[2], И. В. Молчанова[3], Л. П. Цывкина[1,2]

[1] - Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России

[2] - ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул

[3] - Главное управление Алтайского края по здравоохранению и фармацевтической деятельности, г. Барнаул

На основе современных представлений о механизмах развития кровоточивости на фоне полиорганной недостаточности подвергнута критическому анализу практика использования ингибиторов фибринолиза для купирования кровотечений при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром). Показано, что при данном синдроме в большинстве случаев имеет место не активация, а подавление фибринолитических реакций на фоне возрастания общей протеолитической активности крови. Приведены неблагоприятные клинические ситуации и те или иные нарушения гемостаза, при которых ингибирование плазмина наряду с уменьшением кровопотери представляет потенциальную опасность развития тромбоза. Предложено проведение дискуссии по этой проблеме.

Ключевые слова: кровотечения, полиорганная недостаточность, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, транексамовая кислота, поливалентные ингибиторы протеаз, свежезамороженная плазма, рекомбинантный фактор VIIa

The practice of using fibrinolysis inhibitor, on the basis of modern mechanisms of the bleeding sickness on the background of multiple organ failure, for the relief of bleeding in disseminated intravascular coagulation (DIC) is subjected to the critical analysis. It is shown that with DIC not activation but inhibition fibrinolysis reactions, on the background of increasing genetic proteolytic activity of blood, occur in most cases. Unfavorable clinical settings and* certain hemostasis abnormalities were adduced in which plasmin inhibition along with the decrease of blood loss is a potential risk of thrombosis. The discussion on this issue is held.

Keywords: haemorrhage, multiple organ disfunction, disseminated intravascular coagulation syndrome, tranexamic acid, fresh frozen plasma, recombinant factor VIIa

Нарушения гемостаза, часто встречающиеся при многих неотложных и критических состояниях - сепсисе, шоке, тяжелой травме, отравлениях и др. - и клинически проявляющиеся в виде тромбозов и кровотечений расцениваются, согласно основополагающим работам З. С. Баркагана [1-3] и решению Международного комитета по тромбозам и гемостазу (ISTH) как синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) [4].

В основе ДВС-синдрома лежит, как известно, процесс, связанный с поступлением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов, диссеминированным свертыванием крови в микрососудах органов-мишеней, активацией и истощением плазменных протеолитических систем, потреблением физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови, образованием в зоне микроциркуляции микросгустков и агрегатов клеток крови. Следствием этого является развитие шока и блокады микроциркуляции в органах-мишенях, гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции жизненно важных органов. Поэтому понимание механизмов коагуляции поможет объяснить, каким образом

продолжительная и малоуправляемая активация свертывания крови может привести к клиническому синдрому, известному как ДВС. Основные звенья патогенеза ДВС-синдрома, отражающие сверхпороговое внешнее воздействие (травму) и нарушение физиологического баланса клеточных и протеолитических систем, включают в себя:

- начальную активацию гемокоагуляционного каскада (прежде всего за счет активации ф. VII) и тромбоцитов эндогенными факторами - тканевым фактором (тромбопластином), лейкоцитарными протеазами, продуктами распада тканей, опухолевыми прокоагулянтами;
- персистирующую тромбинемию и активацию фибринолиза с повышением уровня маркеров этих сдвигов в циркулирующей крови, в том числе растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), комплекса тромбин-антитромбин III (ТАТ) и D-димеров;
- истощение системы физиологических антикоагулянтов со значительным снижением содержания в плазме антитромбина III (АТ III), протеина С, плазминогена и повышением уровня тромбомодулина в плазме крови;
- системное поражение сосудистого эндотелия и снижение его антитромботического потенциала;
- образование микросгустков крови и блокаду микроциркуляции в органах-мишенях с развитием в них дистрофических и деструктивных нарушений. Основными мишенями являются мозг, надпочечники, почки, печень, желудок и кишечник (синдром полиорганной недостаточности - СПОН);
- активацию фибринолиза в зоне блокады микроциркуляции и истощение его резервов в общей циркуляции;
- потребление факторов гемокоагуляции и тромбоцитопению (и -патию) потребления, приводящие к системной кровоточивости и терминальной гипокоагуляции вплоть до полной несвертываемости крови (геморрагическая фаза синдрома);
- нарушение барьерной функции слизистой оболочки желудка и кишечника с трансформацией асептического ДВС-синдрома в септический;
- вторичную тяжелую эндогенную интоксикацию.

Расшифровка основных механизмов формирования ДВС-синдрома, начиная с работ М. С. Мачабели и З. С. Баркагана [1; 2; 5-9], позволила сформулировать современную концепцию его патогенеза и патогенетической терапии, определила ошибочность ряда практиковавшихся ранее подходов к лечению этого вида патологии - трансфузий малоочищенного фибриногена, введений ингибиторов фибринолиза, способствующих тромбообразованию в магистральных сосудах и усугублению блокады микроциркуляции в жизненно важных органах. Тем не менее в ряде случаев и сегодня ингибиторы фибринолитических реакций неоправданно и небезопасно используются при кровотечениях, связанных с ДВС-синдромом. Это обосновывает необходимость более детального рассмотрения данной проблемы.

Патогенез кровоточивости при ДВС-синдроме

ДВС-синдром часто дебютирует с профузного кровотечения, сопровождает шок любой этиологии, быстро приводит к СПОН, и такие ситуации нуждаются не в лабораторном подтверждении диагноза и неоправданной потере времени, а в скорейшем начале патогенетической терапии.

Роль лабораторной диагностики при этом представляется важной для уточнения тяжести и этапа развития данного синдрома - по степени потребления основных компонентов системы гемостаза - тромбоцитов, фибриногена, физиологических антикоагулянтов - АТ III и протеина С, плазминогена, а также в подборе методов и оценке эффективности проводимой терапии.

ДВС-синдром характеризуется гематомно-микроциркуляторным, или так называемым смешанным типом кровоточивости [10]. Он ассоциируется с тромбоцитопенией/тромбоцитопатией, а также потреблением факторов свертывания крови и/или гиперфибринолизом [2; 11; 12]. Активация фибринолитической системы в подавляющем числе случаев при ДВС-синдроме является вторичной, связанной с распространенным и малоуправляемым физиологическими ресурсами тромбообразованием. Тем не менее при некоторых обстоятельствах фибринолитическая система может быть активирована раньше мобилизации системы свертывания крови. Существование первичного гиперфибринолиза обсуждалось в течение долгого времени, и он действительно имеет место в отдельных клинических случаях, например при лечебном введении лекарственных активаторов плазминогена, таких как стрептокиназа или тканевой активатор плазминогена (актилизе и др.), эмболии околоплодными водами, при онкологических заболеваниях - карциноме [13] или остром промиелоцитарном лейкозе, поскольку известно, что клетки опухоли способны вырабатывать активаторы плазминогена [14].

В таких ситуациях важно провести лабораторное тестирование продуктов деградации фибриногена (ПДФг) в сопоставлении с определением уровня D-димеров. Более значительное нарастание ПДФг четко указывает на системную агрессию плазмина и состояние фибриногенолиза [15; 16].

Установлено, что поздние фазы экстракорпорального кровообращения и ортотопической трансплантации печени (перфузия печени донора) также связаны со значительной экспрессией эндогенного тканевого активатора плазминогена (ТПА), приводящего к кровотечениям [17; 18]. В двух последних ситуациях применение ингибиторов фибринолиза, таких как ε-аминокапроновая или транексамовая кислота, показано, и эта тактика может привести к безопасному снижению темпов кровотечения. Обычно исследование системы гемостаза у больных с описанной выше патологией выявляет выраженную гипофибриногенемию (менее 1,0 г/л) и высокий уровень ПДФг, а также гипокоагуляцию по «глобальным» коагуляционным тестам - тромбиновому и протромбиновому времени свертывания, активированному парциальному/частичному тромбопластиновому времени - АПТВ.

Число тромбоцитов в крови и активность АТ III по коагулограмме находятся в пределах нормы или близки к ней, отсутствует шизоцитоз эритроцитов - маркер гемолитической микроангиопатической анемии, характерный для ДВС-синдрома и тромботической тромбоцитопенической пурпуры (болезни Мошкович).

Возвращаясь к острому ДВС-синдрому, важно учесть, что ведущей причиной его развития являются системные микроциркуляторные расстройства вследствие «наводнения» кровотока тканевым фактором, депрессии физиологических антикоагулянтов и угнетения фибринолитических реакций, приводящие к дисфункции органов с интенсивным кровоснабжением (рис. 1).

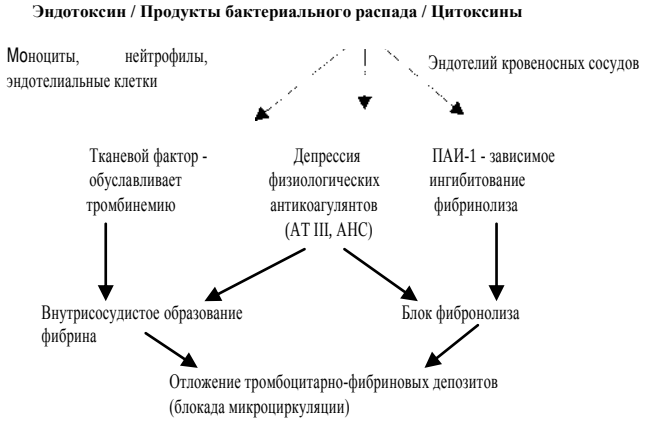


Рис. 1. Узловые механизмы развития ДВС-синдрома при сепсисе и эндотоксемии [19-22]

-1 - зависимое

Вначале изменения могут носить компенсированный характер, затем в зависимости от динамики патологического процесса они приобретают субкомпенсированный и декомпенсированный характер [23; 24]. Мы, как и ряд других авторов [9-11; 25-31], считаем, что, если кровотечение происходит на фоне предшествующего массивного тромбоза, блокады микроциркуляции в жизненно важных органах, применение антифибринолити- ческих средств может усилить процессы тромбо- образования и выраженность органной дисфункции (табл. 1).

Таблица 1

Неблагоприятные условия для применения ингибиторов фибринолиза с целью уменьшения кровопотери

Клинические ситуации	Лабораторные проявления тромбофилии и высокой тромботической готовности [Современные методы распознавания состояния тромботической готовности / А. П. Момот, Л. П. Цывкина, И. А. Тараненко и др.; под науч. ред. д. м. н., проф. А. П. Момота. - Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2011. -138 с.]
1. При коррекции кровотечений на фоне синдрома полиорганной дисфункции - СПОД (например, при перитоните, сопутствующем панкреонекрозу, лизисе бактериальных клеток и эндотоксемии, массивном цитолизе и др.), тромбоэмболии легочной артерии и других системных эмболиях, фармакологически вызываемом тромболизисе, в случае передозировки гепарина, при варфаринотерапии. 2. При профилактике геморрагического синдрома перед операциями высокого тромбогенного риска (эндопротезирование суставов, кесарево сечение, гистерэктомия по поводу миомы матки, урологические вмешательства и др.) нуждающихся, по принятым международным и российским рекомендациям, в обязательной тромбопрофилактике [Баркаган, З. С., Воробьев, П. А., Кириенко, А. И. Протокол ведения больных. Профилактика тромбоэмболии легочной артерии при хирургических и иных инвазивных вмешательствах. Отраслевой стандарт (ОСТ 91500.11.007-2003). Приказ МЗ РФ № 233 от 09.06.2003 г. М.: Ньюдиамед, 2004. - 64 с. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений / В. С. Савельев, Е. И. Чазов, Е. И. Гусев и др. // Флебология, 2010. - № 1. - Том 4. - Выпуск 2. - С. 2-37. Prevention of Venous Thromboembolism. American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition) / W. H. Geerts, D. Bergqvist, G. F. Pineo et al. // Chest, 2008. - Vol. 133. - № 6. - P. 381-453. Evidence-Based Clinical Practice Guidelines American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy, and Pregnancy: Venous Thromboembolism, Thrombophilia (8th Edition) / S. M. Bates, I. A. Greer, I. Pabinger et al. // Chest, 2008. - Vol. 133. - P. 844-886.]. 3. Локальный тромбогеморрагический синдром (в случае гематурии при тромбозе *a. renalis*, кишечных кровотечений на фоне мезантериального тромбоза и др.).	1. Активность АТ III или протеина С менее 70%. 2. Концентрация плазминогена менее 70%. 3. Тромбоцитопения потребления. 4. Наличие шизоцитоза эритроцитов. 5. Носительство тромбогенных мутаций (фактор V Лейден, протромбина). 6. Полиглобулия (гемоглобин у женщин >140 г/л, у мужчин >160 г/л) и связанная с ней высокая вязкость крови. 7. Снижение фибринолиз-активирующей способности сосудистой стенки (рассчитывается по соотношению активностей ТПА и ПАИ-1).

Таким образом, имеется достаточно широкий, на наш взгляд, перечень клинических состояний и нарушений гемостаза, в рамках которых применение ингибиторов фибринолиза с патогенетических позиций видится весьма проблемным и тромбоопасным из-за потенциального сдвига гемостатического равновесия в сторону тромбообразования и высокого риска последующего возникновения катастрофы в системе кровообращения.

Мы считаем, что так называемые фибринолитические кровотечения при всем разнообразии причин развития острого ДВС-синдрома за редким исключением (промиелоцитарный лейкоз, карционома, эмболия околоплодными водами) имеют ошибочную трактовку, поскольку при манифестации этого синдрома, особенно при сепсисе и эндо-

Дискуссии

токсемии, имеет место не активация, а угнетение фибринолитических (зависимых от плазмина) реакций (рис. 2).

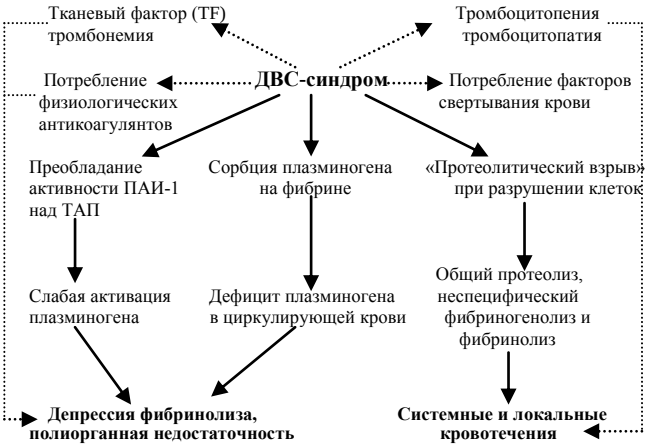


Рис. 2. Патогенез геморрагического синдрома при сепсисе и эндотоксемии

Подавление фибринолиза при ДВС-синдроме объясняется не дефицитом циркулирующего плазминогена (последний откладывается и трансформируется в плазмин в толще отложений фибрина), а избыточным выбросом в кровоток ингибитора активатора плазминогена 1-го типа - ПАИ-1 [20; 21].

Патогенез кровоточивости при ДВС сложен и связан не только с потреблением факторов свертывания крови и тромбоцитопенией. Ключом к пониманию причин опасных для жизни кровотечений может быть также учет происходящего при ДВС «протеолитического взрыва», вызванного массивной гибелью и лизисом клеток крови (прежде всего нейтрофилов и моноцитов), эндотелия и бактериальных клеток (при эффективной антибиотикотерапии), в результате чего в кровоток сбрасываются внутриклеточные ферменты, обладающие неспецифическим трипсиноподобным действием (трипсин, хемотрипсин, эластаза, катепсин G и др.). Установлено, что при остром ДВС-синдроме концентрация в крови трипсина и подобных ему ферментов возрастает в десятки раз при шоке различной этиологии, тяжелых заболеваниях печени и почек, острых панкреатитах, травматичных операциях, сепсисе и др. Трипсин активирует факторы свертывания (XII, XI, X ,VIII, VII и XIII), тромбоциты, способствуя тромбоцитопении, что в свою очередь нарушает питание эндотелия кровеносных сосудов [37-39].

Таким образом, трипсин и схожие с ним протеазы имеют потенциал лизиса фибрина, близкий к таковому у плазмина, и их действие может ошибочно приниматься на счет плазмина при трактовке причин геморрагического синдрома.

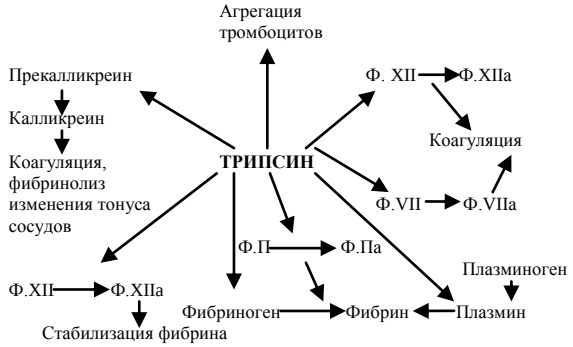


Рис. 3. Влияние трипсина на механизмы гемостаза

Фармакологические ингибиторы фибринолиза имеют высокую специфичность, а механизм действия транексамовой кислоты (препарат «Транексам»), как известно, связан с блокадой лизин-связывающих участков в плазминогене, в связи с чем последний не способен взаимодействовать с фибрином. По этой причине плазминоген не может активироваться посредством ТПА в плазмин, поскольку эта активация возможна лишь тогда, когда плазминоген и ТПА связаны с фибрином [40; 41]. Следовательно, учитывая механизм действия, транек-самовая кислота влияет лишь на фибринолиз, обусловленный плазмином, но не на неспецифический лизис фибрина и фибриногена, вызванный внутриклеточными лизосомальными ферментами при «протеолитическом взрыве». В этом случае она бесполезна, а учитывая снижение плазминового потенциала, и опасна в использовании при манифестации ДВС-синдрома кровотечениями в сочетании с полиорганной недостаточностью. Патогенетически обоснованным при таких кровотечениях представляется применение больших доз поливалентных антипротеаз (ингибиторов сериновых протеаз - контрикала, трасилола и др.), гемостатическая эффективность которых описана и подтверждена во многих публикациях [9; 10; 26; 42; 43].

Смерть пациентов при многих неотложных состояниях наступает не от кровопотери, а от блока микроциркуляции вследствие микротромбообразования и выраженного нарушения гемодинамики и прежде всего от полиорганной недостаточности, степень проявления которой ухудшает прогноз для жизни больных. В последнем случае критичные для жизни нарушения (СПОН) первоначально затрагивают один орган или систему, а при декомпенсированных расстройствах-нескольких жизненно важных органов [44-46].

В таблице 2 приведены собственные наблюдения Алтайского гематологического центра, полученные в 2002-2003 гг. у 152 больных с острым и подострым ДВС-синдромом различной этиологии, наглядно подтверждающие приведенное выше положение.

Таблица 2

Связь выраженности органной недостаточности с исходами при остром ДВС-синдроме [42]

Недостаточность жизненно важных органов	Число больных	Летальные исходы из числа наблюдавшихся больных
Моноорганная	70	4 (5,7%)
Два органа	48	10 (20,8%)
Три органа и более	34	24 (70,6%)

Специалистам известно, что для количественной оценки СПОН используется оценочная система MODS (Multiple Organ Disfunction Score), позволяющая определить степень дисфункции/недостаточности отдельных систем и органов [47]. В этих же целях применяется и шкала SOFA (Sepsis-related Organ Failure As-sessment) [48].

С учетом одной из этих шкал, характеризующих индекс тяжести общего состояния, - APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation - оценка острых физиологических изменений и хронических заболеваний) - позволим себе привести результаты наблюдений у больных с перитонитом, оперированных в отделении гнойной хирургии Алтайской краевой клинической больницы в период с 2007 по 2010 г. (материалы рукописи в процессе опубликования - соавторы: проф. В. Г Лубянский, проф. А. П. Момот, к. м. н. А. Н. Жариков). Оценка тяжести состояния пациентов выполнялась на этапе поступления в стационар, а анализ показателей коагулограммы - до и после окончания релапаро- томий (таблица 3).

Таблица 3

Оценка тяжести, ведущие показатели коагулограммы (X±m) и разделение на группы по степени тяжести поступивших больных с послеоперационным перитонитом (в баллах)

Показатели	Группы больных (n=30)					
	1-я группа (n=7)		2-я группа (n=15)		3-я группа (n=8)	
	X	±т	X	±т	X	±т
APACHE II	8,7	0,7	13,9	0,2	18,8	0,7
Мангеймский индекс перитонита (MPI)	18,6	2,0	20,1	1,0	25,5	2,2
Индекс брюшной полости (ИБП)	18,7	1,4	18,9	0,7	21,9	2,4
Активность АТ III, % (норма 98,8±2,0)	75,6	5,6	71,8	2,8	67,0	1,9
Количество D-димеров в плазме крови, нг/мл (норма 108,9±11,5)	1094,6	282,5	824,0	153,3	699,4	79,4
30-суточная летальность, %	0,0		13,3		50,0	

Несмотря на сравнительно небольшое число приведенных наблюдений, можно видеть, что содержание уровня D-димеров - общепринятого маркера состоявшегося фибринообразования и фибринолиза - находится в обратно пропорциональной зависимости к индексу APACHE II (ранговый коэффициент корреляции - 0,44; P<0,05) и другим общепринятым клиническим индексам тяжести общего состояния больных. Следовательно, низкий «выброс» D-димеров в кровоток способен проявить угнетение фибринолитических реакций при массивном фибринообразовании и низкий потенциал восстановления микроциркуляции в жизненно важных органах, свидетельствующий в пользу неблагоприятного прогноза. Схожие результаты, касающиеся динамики фибринолитических реакций, были опубликованы нами ранее по итогам обследования 102 больных с острым и подострым ДВС-синдромом [49; 50].

Еще раз подчеркнем, что в данных клинических ситуациях применение ингибиторов фибринолиза для снижения тяжести геморрагического синдрома нецелесообразно и опасно в связи с созданием препятствия для восстановления (деблокады) микроциркуляции в жизненно важных органах.

Принципом коррекции кровотечений при ДВС- синдроме и СПОН на протяжении последних десятилетий была и остается заместительная гемо- компонентная терапия с возмещением дефицита клеточных элементов крови (эритроциты, тромбоциты) и восстановлением дисбаланса звеньев системы гемокоагуляции с помощью свежезамороженной плазмы или ее компонентов [2; 3; 26; 29; 42; 43; 51-55]. Дополнительным патогенетически обоснованным приемом в коррекции тяжелых кровотечений при ДВС-синдроме может быть использование поливалентных ингибиторов сериновых протеаз, а также препарата «шунтирующего» действия - рекомбинантного фактора VIIa, который проявил свою эффективность в целом ряде российских клинических исследований [56-60].

Заключение

Приведенные в настоящей работе положения и результаты собственных исследований близки к классическим и противоречат появившимся в последние годы публикациям и рекомендациям в части пользы ингибирования фибринолиза при профилактике и коррекции кровотечений [61-64]. Это касается и ряда известных новых медицинских технологий, зарегистрированных в России (в акушерстве и травматологии). Авторы настоящей работы не претендуют на исключительную правоту своих взглядов и приглашают коллег, специалистов в разных направлениях клинической медицины, включиться в дискуссию по этой проблеме с изложением собственного опыта в целях объективного развития медицинской науки и практики.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2010

УДК 615.273.52.03:618.3-06:618.14-005.1

НОВЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КУПИРОВАНИЯ МАССИВНЫХ АКУШЕРСКИХ КРОВОТЕЧЕНИЙ

А. П. Момот[1], И. В. Молчанова[2,3], В. Б. Цхай[3]

[1]Алтайский филиал ГУ ГНЦ РАМН; [2]Алтайский государственный медицинский университет; [3]Краевая клиническая больница, Барнаул; [4]Красноярская государственная медицинская академия

Резюме. Исследования проводили с целью оценки эффективности использования препарата rFVIIa (НовоСэвен®; "Ново Нордиск", Дания) при жизнеугрожающих кровотечениях во время беременности, в родах, раннем послеродовом периоде, в зависимости от причины кровотечения, объема кровопотери и динамики развития нарушений гемостаза. У 52 женщин с массивными акушерскими кровотечениями в родах и послеродовом периоде проведены общеклинические, гематологические и гемостазиологические исследования. В соответствии с использованными в работе критериями эффективности оптимальный кровоостанавливающий эффект: rFVIIa был определен у женщин с массивным источниковым (гипотоническим) кровотечением, у 80,6% из них применение данной технологии позволило избежать гистерэктомии. В группе больных с массивными акушерскими кровотечениями и полиорганной недостаточностью применение rFVIIa было менее результативным. Определена роль динамического исследования системы гемостаза для уточнения тактики ведения больных с массивными акушерскими кровотечениями. В результате исследования выявлено, что rFVIIa является высокоэффективным гемостатическим средством в лечении женщин с жизнеугрожающими массивными акушерскими кровотечениями, которые не отвечают на традиционную гемостатическую терапию.

Ключевые слова: *кровотечение, беременность, гемостаз, rFVIIa, гистерэктомия*

Summary. New pharmacological facilities to stopping of massive obstetrical hemorrhages. A. P. Momot[1,2], I. V. Molchanova[2,3], V. B. Tskhai[3]. [1]Altai Affiliated Department of Hematological Center; [2]Altai State Medical University; [3]Territorial Clinical Hospital, Barnaul; [4]Krasnoyarsk State Medical Academy. The efficiency of rFVIIa (NovoSeven®, "Novo Nordisk", Denmark) in life-threatening hemorrhages in pregnancy, labor, and early postpartum period was evaluated. The causes of bleeding, volume of blood loss, clinical, hematological and hemostatic parameters were were analyzed in 52 women with massive obstetrical hemorrhages in labor and during the postpartum period. The optimal hemostatic effect of rFVIIa was observed in women with massive source (hypotonic) hemorrhages. In 80.6% of these patients no hysterectomy was carried out due to use of this therapy. The efficiency of rFVIIa was less in patients with massive obstetrical hemorrhages and multiple organ failure. The role of dynamic studies of the hemostasis system for more precise planning of treatment strategy for patients with massive obstetrical hemorrhages is determined. Conclusion rFVIIa is effective hemostatic agent for the treatment of patients with life-threatening obstetrical hemorrhages, not responding to traditional hemostatic therapy.

Key words: *hemorrhage, pregnancy, hemostasis, rFVIIa, hysterectomy*

Массивные акушерские кровотечения (МАК) остаются одной из основных причин материнской смертности [1—4]. Известно, что только 62—65% родов через естественные пути сопровождается физиологической кровопотерей, а 1/3 пациенток теряют от 500 до 1000 мл крови, и у 3—8% больных объем кровопотери превышает 1,5% от массы тела и считается массивным (Резолюция IX Всероссийского научного форума Мать и дитя «Кровотечения в акушерской практике», Москва, 4 октября 2007 г.). Для акушерских кровотечений характерны внезапность и высокая темповая скорость кровопотери, что при сниженных адаптивных возможностях организма роженицы на фоне соматических заболеваний и патологии беременности способствует быстрому развитию коагулопатии, явлений шока и полиорганной недостаточности,

В соответствии с современными подходами, принятыми в акушерстве, успешное решение проблемы кровотечений во время беременности, родов и в раннем послеродовом периоде предполагает сохранение не только жизни женщины, но и ее репродуктивной функции. В связи с этим в настоящее время активно ведется поиск эффективных, альтернативных гистерэктомии методов остановки МАК. В реализации органосохраняющих технологий хорошую перспективу имеют дальнейшая разработка и освоение современных методов хирургического гемостаза, в том числе применение внутриматочного гемостатического баллона, наложение компрессионных швов на матку, двустороннее лигирование внутренних подвздошных артерий, а также эмболизация маточных сосудов [3—6].

Перспективы для купирования **МАК** и уменьшения потребности в донорской крови определяются в последние годы и в области фармакологи-

Для корреспонденции:
Момот Андрей Павлович, д-р мед. наук, проф., дир. Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН.
Адрес: 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1
Телефон: 8(3852)689-800.
E-maii: xyzan@yandex.ru

ческой коррекции гемостаза. Среди новых клинических возможностей рассматривается эмпирическое использование рекомбинантного активированного фактора VIIa (rFVIIa) для лечения кровотечений, рефрактерных к общепринятой консервативной терапии. В частности, имеется ряд сообщений о высокой эффективности rFVIIa — препарата НовоСэвен® (“Ново Нордиск А/С”, Дания) — для остановки кровотечений в травматологии, кардиохирургии, неврологии, онкологии и др. [7—13].

Два недавних обзора [14, 15] подытожили литературу по использованию rFVIIa. Сначала были опубликованы рекомендации Европейского соглашения по использованию rFVIIa в хирургии в случае массивных кровотечений [14]. В последующем американская группа, проанализировав литературу по применению rFVIIa в ряде критических ситуаций, включая небольшое число случаев в акушерстве и гинекологии, заключила, что его использование для купирования послеродового кровотечения подходит только после попытки замещения дефицита факторов свертывания крови [15].

Необходимо учесть, что имеются официальные рекомендации к применению данного препарата исключительно при гематологических заболеваниях — гемофилии (с 1998 г.), прежде всего ингибиторной форме данной коагулопатии, дефиците FVII, тромбастении Гланцманна и некоторых других геморрагических диатезах [16—19]. Вне этих показаний любое использование считается «off-label» и ответственность за решение об использовании rFVIIa остается за лечащим врачом.

FVII как природного происхождения, так и в виде рекомбинантного препарата играет ключевую роль в стимуляции гемостатических реакций у человека. В соответствии с современными представлениями плазменный, эндогенный FVIIa способен прямо активировать FIX в FIXa и FX в FXa после взаимодействия с тканевым фактором (TF) в месте повреждения эндотелия сосудистой стенки и соответственно в месте возникшего кровотечения (рис. 1, см. на обложке).

В фармакологических (многократно больше физиологических) дозах rFVIIa напрямую активизирует FX на поверхности активированных тромбоцитов в месте повреждения независимо от TF, FVIII и FIX, что способствует активации каскада коагуляции, приводя в дальнейшем к интенсивному синтезу тромбина (рис. 2, см. на обложке).

Последний инициирует образование стабилизированного фибрина, устойчивого к преждевременному тромболизису и способного обеспечить эффективный гемостаз в области травмы [21—23].

Наше внимание привлекли полученные в ряде неконтролируемых и нерандомизированных исследований [5, 6, 13, 14, 24—26] зарубежные данные об эффективности rFVIIa в лечении акушерских кровотечений, рефрактерных к традиционной консервативной терапии. Следует отметить, что в России подобные исследования начались в 2003 г. с работ проф. З. С. Баркагана и его сотрудников [27—30] и продолжены в ряде научных центров страны [7, 31-33].

В решении рабочего совещания "Результаты ретроспективного исследования применения рекомбинантного активированного фактора VII в лечении массивных акушерских кровотечений” (Москва, 3 апреля 2008 г.) отмечено, что в течение последних лет в терапии акушерских кровотечений все чаще применяется rFVIIa. Имея возможность использования данного препарата, специалисты нуждаются в определении его эффективности, безопасности при акушерских кровотечениях и рекомендациях по его применению. Таким образом, несмотря на имеющийся положительный опыт применения rFVIIa в лечении МАК, до настоящего времени имеются лишь отрывочные данные о его эффективности в зависимости от причины кровотечения, степени кровопотери, глубине дефектов в системе гемостаза у пациенток. В литературе недостаточно информации о целесообразности комбинированного применения rFVIIa с препаратами и компонентами плазмы крови, в том числе в период, следующий за остановкой кровотечения. Очевидно и то, что дальнейшее накопление и обобщение случаев использования rFVIIa в акушерской практике послужат базовой основой для регистрации соответствующих показаний к его применению в акушерстве и гинекологии.

Целью работы явилась оценка эффективности использования препарата rFVIIa (НовоСэвен) при жизнеугрожающих кровотечениях во время беременности, в родах, раннем послеродовом периоде в зависимости от причины кровотечения, объема кровопотери и динамики развития нарушений гемостаза.

Материалы и методы

В рамках проспективного исследования и динамического наблюдения нами получены данные о 40 пациентках с МАК — жительницах Алтайского края. Наряду с этим проведен анализ 12 стандартных протоколов, разработанных Международным экспертным советом по проведению исследования применения препарата rFVIIa при послеродовых кровотечениях у обследованных пациенток, поступивших в Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН из Красноярска (7 женщин), Брянска (5) и Сыктывкара (3 женщины).

Средний возраст наблюдаемых женщин составил 27,4 ± 2,3 года, статистически не отличаясь между группами (от 18 до 40 лет). Средний срок гестации при родоразрешении у обследуемых пациенток был равен 35,5 ± 2,9 нед (табл. 1). Родоразрешение через естественные родовые пути было у 22 (42,3%) женщин, оперативно, включая наложение акушерских щипцов, — у 30 (57,7%) рожениц. У 14 (26,9%) рожениц кровотечение начиналось во время беременности, у 9 (17,3%) — в родах, у 23 (44,2%) в раннем послеродовом периоде, у 6 (11,6%) женщин — в позднем послеродовом периоде.

Пациенткам наряду с традиционной терапией угрожающего жизни кровотечения, возникшего во время беременности, родов и в послеродовом периоде, был проведен фармакологический гемостаз с применением rFVIIa. Последний вводили внутривенно болюсно в дозе от 47 до 87,7 мкг на 1 кг массы тела больной, в среднем 72,1 ± 5,1 мкг/кг. Принципиально то, что rFVIIa использовался лишь в качестве дополнения к классическим технологиям остановки кровотечений, включающим инфузионную и трасфузионную терапию с использованием свежезамороженной плазмы (СЗП), препаратов эритроцитов и тромбоцитов, ингибиторов протеаз, утеротоников, а также хирургические методы гемостаза, что согласуется с мнением ряда зарубежных экспертов [14, 25, 26]. Тем не менее есть сообщение, что rFVIIa был успешно использован для профилактики кровотечений в период родов у беременных женщин с приобретенными нарушениями свертывающей системы крови [34].

Таблица 1

Общая характеристика обследованных женщин, леченных с применением rFVIIa

Критерий сравнения	Группа больных, получивших лечение rFVIIa					
	1-я (*n* = 31)		2А (*n* = 14)		2Б (*n* = 7)	
Средний возраст, годы	24,9 ± 1 , 8	$P_{1\text{-}2А} < 0,02$	32,2 ± 2,4	$P_{2А\text{-}2Б} < 0,02$	25,4 ± 1 , 6	$P_{1\text{-}2Б} < 0,02$
Средний срок гестации, нед	36,3 ± 2,5*	$P_{1\text{-}2А} < 0,02$	35,4 ± 2,2	$P_{2А\text{-}2Б} < 0,02$	33,6 ± 1,2	$P_{1\text{-}2Б} < 0,02$
Метод родоразрешения:						
через естественные родовые пути	13 (41,9%)**		5 (35,7%)		4 (57,1%)	
абдоминально	16 (51,6%)		9 (64,3%)		3 (42,9%)	

Примечание. * — из расчетов исключены 4 случая МАК в послеродовом периоде; ** — исключены 2 случая родов с наложением выходных акушерских щипцов.

Все больные были разделены на 2 основные группы. Женщинам 1-й группы (*n* = 31) rFVIIa вводили с целью остановки локального (маточного) кровотечения. Основным критерием эффективности использования гемостатического средства при этом считали сохранение репродуктивной функции матери. Во 2-й группе (*n* = 21) rFVIIa использовали в комплексной терапии системной кровоточивости, наблюдаемой при возникновении акушерского синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома). В данной группе до введения препарата у 17 (80,9%) женщин после выполнения классического алгоритма остановки кровотечения с радикальным удалением послеродовой матки сохранялась системная кровоточивость, угрожающая жизни женщины. Ведущим критерием эффективности использования rFVII во 2-й группе рассматривалось сохранение жизни пациентки. Мы посчитали целесообразным при проведении анализа в данной группе больных дополнительно сформировать две выборки (подгруппы 2А и 2Б). В подгруппу 2А были включены случаи с системной кровоточивостью, характерной для ДВС-синдрома, но без проявлений полиорганной недостаточности (*n* = 14). В подгруппу 2Б вошли 7 пациенток с выраженным геморрагическим синдромом и явными признаками дисфункции жизненно важных органов.

У 49 (92,2%) пациенток наряду с общеклиническим обследованием и измерением параметров кровопотери проводили анализ основных показателей системы гемостаза в соответствии с отечественными руководствами по лабораторной диагностике нарушений свертываемости крови [35, 36]. Он включал в себя подсчет количества тромбоцитов в крови (фазово-контрастным методом), измерение активированного парциального тромбо пластинового времени (АПТВ) по J. Caen и соавт., протромбинового времени (ПВ) по A. Quick с тромбопластином, стандартизированным по международному индексу чувствительности, тромбинового времени по R. Biggs и R. Macfartane и концентрации фибриногена в плазме по A. Clauss. Антикоагулянтное звено гемостаза оценивали по активности антитромбина III (АТIII). Выявление маркеров тромбинемии включало в себя оценку уровня растворимых фибрин—мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови на основе ортофенантролинового тес та по В. А. Елыкомову и А. П. Момоту. Все приведенные выше показатели оценивали с помощью реагентов фирмы ”Технология-Стандарт” (Россия) [35, 36].

Полученные результаты были статистически обработаны с помощью программы Excel Microsoft по стандартным методикам вычислений показателей описательной статистики.

Результаты и обсуждение

У всех наблюдаемых женщин имелось осложненное течение беременности, но характер и тяжесть этих осложнений в сравниваемых группах были разными (табл. 2). Равнозначно часто (у 12,9%) у больных в группе с локальными (маточными) кровотечениями были диагностированы патология прикрепления плаценты, рубец на матке и внутриутробная инфекция. Для больных с системной кровоточивостью как предпосылка к развитию акушерского ДВС-синдрома (подгруппа 2А) были характерны тяжелые формы гестоза (у 28,6%), генерализованные формы внутриутробной инфекции у плода (у 19%), сопровождающиеся синдромом внутриутробной задержки развития плода (у 19% женщин).

Соматическая патология и отклонения в течении беременности определяли и характер осложнений в родах и послеродовом периоде (табл. 3). В 1 -й группе почти у $^1/_4$ пациенток были отмечены слабость родовых сил и плотное прикрепление плаценты. Во 2-й же группе в целом лидирующими осложнениями были акушерский травматизм и ост-

Осложнения беременности у обследованных пациенток

Таблица 2

Форма патологии	группа больных					
	1-я (*n* = 31)		2А (*n* = 14)		2Б (*n* = 7)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Патологическая плацентация	4	12,9	1	7,1	0	0
Рубец на матке	4	12,9	3	21,4	0	0
Крупный плод	3	9,7	1	7,1	0	0
Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты	3	9,7	2	14,3	1	14,3
Преэклампсия	2	6,5	3	21,4	3	42,9
Синдром задержки развития плода	1	3,2	2	14,3	2	28,6
Внутриутробная инфекция	4	12,9	1	7,1	2	28,6
Антенатальная гибе ль плода	0	0	2	14,3	0	0
Всего женщин с осложнениями беременности*...	21	67,8	14	100	8	100

Примечание. * — с учетом комбинации имеющихся осложнений

Таблица 3

Причины МАК у женщин с фармакологической коррекцией гемостаза

Критерий сравнения	Группа больных					
	1-я (*n* = 31)		2А (*n* = 14)		2Б (*n* = 7)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Антония матки	8	25,8	3	21,4	0	0
Патологическая плацентация	8	25,8	0	0	0	0
Преждевременная отслойка нормального расположения плаценты	5	16,1	1	7,1	1	14,3
Коагулопатия, обусловленная соматическими заболеваниями	4	12,9	0	0	0	0
Коагулопатия, обусловленная осложнениями беременности	2	6,5	2	14,4	3	42,8
Задержка частей плаценты	4	12,9	1	7,1	0	0
Акушерская травма	0	0	6	42,9	0	0
Эмболия околоплодными водами	0	0	1	7,1	1	14,3
Акушерский сепсис	0	0	0	0	2	28,6

рая гипоксия плода, обусловленная сниженными адаптивными возможностями из-за тяжелой формы фетоплацентарной недостаточности,

В частности, основными причинами кровотечений у женщин 1-й группы были атония матки (25,8%) и патологическая плацентация (25,8%). В группе больных с развитием ДВС-синдрома без проявлений полиорганной недостаточности (подгруппа 2А) доминирующей причиной кровотечения явился акушерский травматизм (42,9%). У женщин же с дисфункцией жизненно важных органов (подгруппа 2Б) клинические проявления ДВС-синдрома ассоциировались с тяжелой акушерской патологией, основу которой составила преэклампсия.

Анализ особенностей геморрагического синдрома в родах и послеродовом периоде выявил наибольшие темповую скорость кровопотери и ее объем у больных с системной кровоточивостью и другими клиническими проявлениями акушерского ДВС-синдрома (подгруппы 2А и 2Б) (табл. 4). В этих случаях имелся также более длительный период от начала кровотечения до принятия решения о применении rFVIIa. Так, в 1-й группе препарат вводили, по средним данным, спустя 73 мин, а при развитии полиорганной недостаточности лишь через 189 мин от начала геморрагического синдрома. Очевидно, это связано с тем, что rFVIIa рассматривается акушерами-гинекологами и реаниматологами как резервное средство купирования критических кровотечений после использования известных гемостатических технологий, включая гистерэктомию.

Применение rFVIIa приводило к быстро получаемому и выраженному гемостатическому эффекту, определенному нами у 42 (80,8%) из 52 женщин, и лишь в 7 (13,5%) наблюдениях при продолжающемся кровотечении было принято решение о повторном введении препарата.

В зависимости от причин, фона и особенностей МАК (см. табл. 2—4) выявлены значительные различия в эффективности примененной гемостатической терапии. У женщин с локальными маточными кровотечениями (1-я группа) не зарегистрировано ни одного случая летального исхода (табл. 5). При этом сохранение репродуктивной функции было достигнуто у 80,6% женщин. Следует отметить, что причиной гистерэктомии у пациенток данной группы послужило наличие матки Кювелера (*n* = 4) и истинного вращения плаценты (*n* = 2).

Во 2-й группе, характеризующейся развитием акушерского ДВС-синдрома, показатели эффективности применения препарата rFVIIa были сравнительно ниже. В данной группе летальный исход наступил у 4 (19%) из 21 женщины, что закономерно связывается с формированием тяжелой полиорганной недостаточности в период, предшествующий введению rFVIIa (подгруппа 2Б). Значительно чаще во 2-й группе наблюдались и неблагоприятные перинатальные исходы — у 8 (38,1%) женщин, а репродуктивная функция была сохранена лишь у 5 пролеченных женщин.

Таблица 4

Показатели кровопотери и особенности использования rFVIIa при массивных кровотечениях у беременных

Критерий сравнения	Группа больных							
	1-я (*n* = 31)			2 А (*n* = 1 4)		2Б (*n*=7)		
Объем кровопотери до введения rFVIIa, мл	1830,5 ± 14,5	$P_{1-2А}$	< 0,001	2173,4 ± 19,7	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	2467 ± 20,5	$P_{1-2Б}$	< 0,001
Общий объем кровопотери, мл	2084,2 ± 13,7	$P_{1-2А}$	< 0,001	2479,6 ±11,9	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	3452,9 ±21,1	$P_{1-2Б}$	< 0,001
Темп кровопотери, мл/мин	17,6 ± 0,1	$P_{1-2А}$	< 0,001	25,6 ± 0,2	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	29,4 ± 0,2	$P_{1-2Б}$	< 0,001
Минимальный уровень гемоглобина в крови, г/л	69,3 ± 0,4	$P_{1-2А}$	< 0,001	61,7 ± 0,6	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	54,1 ± 0,3	$P_{1-2Б}$	< 0,001
Время от начала кровотечения до введения rFVIIa, мин	73 ± 0,5	$P_{1-2А}$	< 0,001	123,6 ± 1,0	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	189 ± 2,1	$P_{1-2Б}$	< 0,001
Доза rFVIIa, мкг/кг	75,1 ± 0,5	$P_{1-2А}$	< 0,001	61 ± 0,4	$P_{2А-2Б}$ < 0,001	72,5 ± 0,7	$P_{1-2Б}$	< 0,01
Повторное введение rFVIIa, число случаев	4 (12,9%)			Не выполняли		3 (42,9%)		

Таблица 5

Оценка эффективности применения rFVIIa при МАК

Критерий сравнения	Группа больных		
	1-я (*n* = 31)	2А (*n* = 14)	2Б (*n* = 7)
Материнская смертность	0 (0%)	0 (0%)	4 (57,1%)
Перинатальная смертность	5 (16,1%)	5 (35,7%)	3 (42,9%)
Сохранение репродуктивной функции	25 (80,6%)	5 (35,7%)	0 (0%)
Объем кровопотери после введения rFVIIa: мл	254,8 ±19,1	306,4 ± 20,6	950,6 ± 73,3
% от исходной кровопотери	13,9	14,1	38,5
	$P_{1—2А} < 0,1$	$P_{2А—2Б} < 0,001$	$P_{1—2Б} < 0,001$

Объективным показателем эффективности купирования геморрагического синдрома служит снижение объемов кровопотери после инфузии rFVIIa. В наблюдаемых нами случаях показатель остаточной кровопотери был сравнительно низким в 1-й группе и подгруппе 2А (около 14% от объема исходной кровопотери), но значительно возрастал (в 3,1 —3,7 раза) у больных с тяжелой органной дисфункцией.

Учитывая представленные выше данные, можно отметить, что оптимальная эффективность rFVIIa по всем рассмотренным критериям достигается при МАК в связи с локальными (маточными) кровотечениями, а также при системной кровоточивости, сопутствующей акушерскому ДВС-синдрому, — в наших наблюдениях у 45 (86,5%) больных. Сравнительно более низкий гемостатический эффект наблюдался нами при применении гемостатического средства на фоне полиорганной недостаточности, в таких случаях даже повторные инфузии rFVIIa (в дозах от 40 до 46 мкг/кг) у 3 из 7 пациенток не привели к купированию кровотечения.

Мы посчитали важным сопоставить клинические проявления МАК и эффекты rFVIIa у обследованных женщин с изменениями в системе гемостаза, поскольку последние имеют непосредственное отношение как к формированию геморрагического синдрома, так и к оценке эффективности и безопасности фармакологической коррекции кровоточивости.

При исследовании базовых показателей коагулограммы у пациенток 1-й группы за 1—7 дней до развития МАК выявлены достоверно выраженная гипофибриногенемия (в сравнении с физиологической нормой для этого срока гестации) и повышение активности АТIII (табл. 6). Можно предположить, что эти изменения способны снизить степень так называемой физиологической гиперкоагуляции у беременных и могут явиться патологическим фоном для формирования тяжелого геморрагического синдрома в родах. Манифестация гипотонического кровотечения в наших наблюдениях ассоциировалась с тромбоцитопенией, гипокоагуляцией по протромбиновому тесту и продолжающимся снижением концентрации фибриногена.

Таблица 6

Динамика показателей гемостаза у беременных с источниковым кровотечением (гипотонией матки) на фоне применения rFVIIa

Метод исследования гемостаза	Показатель при нормально протекающей беременности в III триместре*	У больных за 1—7 дней до введения rFVIIa	Во время кровотечения	После введения препарата rFVIIa		
				через 1—5 ч	через 1 сут	через 2—5 сут
	K	1	2	3	4	5
Тромбоциты в крови, • 10^9/л	212,5 ± 11,9	213,8 ± 13,4 $P_K > 0,05$	167,9 ± 11,1 $P_{1-2} < 0,02$ $P_K < 0,01$	153,2 ± 6,2 $P_{1-3} < 0,0001$ $P_K < 0,001$	177,4 ± 6,5 $P_{1-4} < 0,05$ $P_K < 0,01$	225 ± 14 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$
Отношение ПВ ($ПВ_{больной}/ПВ_{контроль}$)	1,01 ± 0,02	1,07 ± 0,05 $P_K > 0,05$	1,42 ± 0,14 $P_{1-2} < 0,05$ $P_K < 0,01$	0,99 ± 0,04 $P_{1-3} < 0,05$ $P_K > 0,05$	1,03 ± 0,05 $P_{1-4} > 0,05$ $p_K > 0,05$	1,12 ± 0,14 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$
Отношение АПТВ ($АПТВ_{больной}/АПТВ_{контроль}$)	0,94 ± 0,01	1,02 ± 0,04 $P_K > 0,05$	0,95 ± 0,01 $P_{1-2} > 0,05$ $P_K > 0,05$	0,93 ± 0,07 $P_{1-3} > 0,05$ $P_K > 0,05$	0,92 ± 0,05 $P_{1-4} > 0,05$ $P_K > 0,05$	1,2 ± 0,18 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$
Фибриноген, г/л	4,02 ± 0,21	3,08 ± 0,33 $P_K < 0,02$	2,32 ± 0,28 $P_{1-2} > 0,05$ $P_K < 0,001$	2,06 ± 0,14 $P_{1-3} < 0,01$ $p_K < 0,001$	2,89 ± 0,20 $P_{1-4} > 0,05$ $P_K < 0,001$	3,5 ± 0,61 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$
РФМК, мг/100 мл	10,1 ± 0,2	12,7 ± 1,8 $P_K > 0,05$	–	14,8 ± 2,0 $P_{1-3} > 0,05$ $P_K < 0,02$	11,8 ± 1,85 $P_{1-4} > 0,05$ $P_K > 0,05$	11,7 ± 1,48 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$
АТIII, %	99,3 ± 1,6	110 ± 4,8 $P_K < 0,05$	93,3 ± 13,8 $P_{1-2} > 0,05$ $P_K > 0,05$	78,2 ± 9,6 $P_{1-3} < 0,02$ $P_K < 0,05$	86,6 ± 5,0 $P_{1-4} < 0,02$ $P_K < 0,05$	97,7 ± 5,1 $P_{1-5} > 0,05$ $P_K > 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 7 приведены средние значения основных коагуляционных показателей в III триместре беременности, полученные в лаборатории гемостаза Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН.

В первые часы после инфузии rFVIIa прекращение или редукция кровотечения (см. табл. 4 и 5) сопровождались углублением тромбоцитопении и гипофибриногенемии, что закономерно, поскольку именно тромбоциты и фибриноген являют собой основу кровяного сгустка. Данные сдвиги определялись на фоне резкого сокращения ПВ свертывания, усиления тромбинемии (измеряемой по уровню РФМК) и заметного снижения активности одного из наиболее значимых физиологических антикоагулянтов — АТIII. Все это в целом свидетельствует о системном, обусловленном rFVIIa повышении прокоагулянтных свойств крови наряду с умеренным снижением ее антикоагулянтного потенциала, приводящим в подавляющем большинстве случаев к клинически выраженному гемостатическому эффекту. В последующем, спустя сутки и в более отдаленные сроки от времени возникновения МАК, все найденные сдвиги, как правило, уменьшались, определялся лишь умеренный гипокоагуляционный сдвиг по АПТВ и ПВ.

Исследования системы гемостаза у женщин 2-й группы, с акушерским ДВС-синдромом, выявили однонаправленные (см. выше результаты по 1-й группе), но более глубокие нарушения изучаемых показателей гемокоагуляции в период, предшествующий тяжелому кровотечению, и во время него (табл. 7). При развитии МАК обращали на себя внимание выраженность тромбоцитопении (снижение числа тромбоцитов в среднем до 88,3 • 10^9/л) и потребления АТIII (снижение активности в среднем до 72% от нормы), а также гипокоагуляция по ПВ, что наряду с имеющейся тромбинемией может расцениваться как лабораторная верификация ДВС-синдрома [36—39].

На фоне гемостатической терапии МАК, включающей трансфузии донорских тромбоцитов и введение rFVIIa, число циркулирующих в крови тромбоцитов у обследованных больных возрастало в среднем в 1,43 раза ($p < 0,1$), в то время как концентрация фибриногена уменьшилась на 39% ($p < 0,02$). Эти данные существенно отличаются от результатов, полученных в 1-й группе наблюдений, где снижение уровня фибриногена было не столь заметно, а число тромбоцитов умеренно уменьшалось. Учитывая сказанное, а также факт уменьшения антикоагулянтного потенциала (по активности АТIII) при МАК на фоне ДВС-синдрома и приема rFVIIa в среднем до 69,1%, можно видеть в этой группе больных более высокий риск формирования или усиления органной дисфункции, связанной с блокадой микроциркуляции, что описано и подтверждено в ряде публикаций, посвященных изучению асептических и инфекционно-септических вариантов ДВС-синдрома [37, 39—43].

АТIII является кофактором гепарина и относится к наиболее значимым ингибиторам системы свертывания крови, на его долю приходится около 80% общего антикоагулянтного потенциала [44]. При снижении активности АТIII в плазме ниже 70% риск патологического тромбообразования прогрессивно возрастает, и он тем больше, чем значительнее дефицит данного антикоагулянта. Падение активности АТIII до уровня 30—50% от физиологической нормы приводит уже к генерализованной, ничем не сдерживаемой тромбинемии и массивным тромбозам в сосудах любого калибра. В этом случае период полужизни АТIII резко укорачивается и может составлять лишь несколько часов (особенно при использовании лечебных доз гепарина) [41, 43, 45].

В соответствии с современными рекомендациями снижение активности АТIII у больных ниже 70% при разных видах патологии требует проведения заместительной терапии с целью его возмещения до физиологической нормы (80—120%) [1, 37,40,42,44]. Для преодоления дефицита АТIII можно использовать коммерческие препараты этого анти- коагулянга, например АТIII человеческий ("Baxter"), или СЗП. Следует, однако, учесть, что массивные трансфузии последней (из расчета 20—25 мл/кг) могут привести к гиперволемии и опасности интерстициального отека легких, особенно при наличии почечной недостаточности и при прекращении кровотечения. В

Таблица 7

Показатели гемокоагуляции у беременных с системной кровоточивостью (акушерским ДВС-синдромом) при введении rFVIIa

Метод исследования гемостаза	Показатель при нормально протекающей беременности в III триместре	У больных за 1—7 дней до введения rFVIIa	Во время кровотечения	После введения препарата rFVIIa		
				через 1—5 ч	через 1 сут	через 2—5 сут
	К	1	2	3	4	5
Тромбоциты в крови, • 10^9/л	212,5 ± 11,9	210,9 ± 23,2 $P_К > 0,05$	88,3 ± 11,7 $P_{1-2} < 0,001$ $P_К < 0,001$	126,6 ± 16,9 $P_{1-3} < 0,02$ $P_К < 0,001$	153,9 ± 27,6 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К > 0,05$	159 ± 18,2 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К > 0,05$
Отношение ПВ ($ПВ_{больной}/ПВ_{контроль}$)	1,01 ± 0,02	1,28 ± 0,12 $P_К < 0,05$	1,18 ± 0,11 $P_{1-2} > 0,05$ $P_К > 0,05$	1,24 ± 0,19 $P_{1-3} > 0,05$ $P_К > 0.05$	1,01 ± 0,04 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К > 0,05$	1,2 ± 0,17 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К > 0,05$
Отношение АПТВ ($АПТВ_{больной}/АПТВ_{контроль}$)	0,94 ± 0,01	1,3 ± 0,13 $P_К < 0,01$	—	0,99 ± 0,07 $P_{1-3} = 0,05$ $P_К > 0,05$	1,14 ± 0,15 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К > 0,05$	1,71 ±0,65 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К > 0,05$
Фибриноген, г/л	4,02 ± 0,21	2,62 ± 0,25 $P_К < 0,01$	2,5 ± 0,25 $P_{1-2} > 0,05$ $P_К < 0,01$	1,55 ±0,24 $P_{1-3} < 0,01$ $P_К < 0,001$	2,94 ± 0,45 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К < 0,05$	3,89 ± 1,10 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К > 0,05$
РФМК, мг/100 мл	10,1 ± 0,2	12,2 ± 2,64 $P_К > 0,05$	—	13,4 ± 2,9 $P_{1-3} > 0,05$ $P_К > 0,05$	12,5 ± 2,30 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К > 0,05$	16,7 ± 3,0 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К < 0,05$
АТIII, %	99,3 ± 1,6	99,6 ± 5,7 $P_К > 0,05$	72 ± 3,8 $P_{1-2} < 0,001$ $P_К < 0,01$	69,1 ± 5,2 $P_{1-3} < 0,01$ $P_К < 0,001$	84 ± 7,3 $P_{1-4} > 0,05$ $P_К < 0,05$	97,6 ± 4,2 $P_{1-5} > 0,05$ $P_К > 0,05$

этих случаях возможен маневр, предусматривающий комбинированное применение препарата АТIII (500—1000 ед/сут) и СЗП (в дозе 7-10 мл/кг) [45].

Есть основания предполагать, что поддержание устойчивого баланса про- и антикоагулянтных систем гемостаза у больных с системной кровоточивостью после использования rFVIIa позволит снизить риск возникновения или потенциального усиления полиорганной недостаточности.

Возвращаясь к реакциям системы гемостаза на введение rFVIIa у женщин с акушерским ДВС-синдромом и МАК, отметим, что у данных пациенток ПВ, по средним данным, не укорачивалось, а в большинстве случаев удлинялось или оставалось на исходном на время кровотечения уровне (см. табл. 7). В частности, у 3 (21,3%) больных из подгруппы 2А и 4 (57,1%) из подгруппы 2Б применение rFVIIa не привело к укорочению ПВ в отличие от закономерного гиперкоагуляционного сдвига ПВ, определяемого у женщин с источниковым (маточным) кровотечением (см. табл. 7). На наш взгляд, отсутствие укорочения ПВ в первые 2 ч после введения rFVIIA может послужить прогностическим критерием его низкой гемостатической активности, а также малой результативности повторных инъекций препарата.

В последующем, в течение 1—5 дней после возникновения МАК, у 17(81%) из 21 выжившей пациентки все исследуемые показатели гемостаза имели тенденцию к нормализации, за исключением перманентной тромбинемии, умеренной тромбоцитопении и гипокоагуляции по АПТВ.

Полученная нами информация об изменениях гемокоагуляции при проведении гемостатической терапии позволяет оценить значимость такого рода исследований у беременных женщин и рекомендовать их для уточнения тактики ведения больных с МАК.

В числе поднятых выше вопросов нас интересовала также вероятность развития тромбоза на фоне применения препарата НовоСэвен. При анализе 65 случаев лечения rFVIIa женщин с тяжелыми акушерскими кровотечениями, представленных M. Franchini и соавт. [24], данных, полученных Т. А. Федоровой и соавт. [32] (55 наблюдений), и результатов настоящей работы не выявлено каких-либо эпизодов сосудистого тромбоза. Однако мы, как и ряд других авторов [46—49], рекомендуем соблюдать особую осторожность при использовании этого системного гемостатического средства у женщин с высоким риском тромбоэмболии, например при онкологических заболеваниях репродуктивных органов, воздушной эмболии, антифосфолипидном синдроме, а также при наличии тромбоэмболического синдрома в анамнезе и у близких кровных родственников.

В целом полученные нами данные свидетельствуют, что rFVIIa является высокоэффективным гемостатическим средством в лечении женщин с угрожающими жизни МАК, которые не отвечают на традиционную гемостатическую терапию. В соответствии с использованными в настоящей работе критериями эффективности оптимальный кровоостанавливающий эффект был определен у женщин с массивным маточным (гипотоническим) кровотечением, у которых применение данной технологии позволило избежать гистерэктомии в подавляющем большинстве случаев (80,6%), в сочетании с низкими перинатальными потерями (16,1%) и отсутствием летальных исходов. Сравнительно низкая гемостатическая эффективность в этой группе была определена у пациенток, причиной МАК у которых явились матка Кювелера и истинное вращение плаценты. В группе больных с острым акушерским ДВС-синдромом и МАК применение rFVIIa также было оправданным, хотя и сравнительно менее эффективным, что иллюстрировалось в ряде случаев продолжающейся кровопотерей в сочетании с признаками органной дисфункции. Случаи неуспеха фармакологической коррекции кровотечений rFVIIa могут быть объяснены резистентностью, в силу разных причин, свертывающей системы крови к активации избыточным количеством FVIIa (проявляемой по результатам протромбинового теста) [7, 13, 15, 24, 25, 31], а также наличием полиорганной недостаточности, которая привела в наших наблюдениях к неблагоприятному исходу у 4 из 7 беременных женщин.

Важно учитывать, что применение rFVIIa при массивном кровотечении приводит к дальнейшему потреблению тромбоцитов и фибриногена, что согласуется с современным объяснением механизма его гемостатического действия, однако для снижения риска развития или вероятного усиления полиорганной недостаточности при остром акушерском ДВС-синдроме необходимо предпринимать усилия для возмещения дефицита не только субстратов и факторов свертывания, но и физиологических антикоагулянтов. Оптимальной тактикой в период после использования rFVIIa представляется применение на протяжении 3—7 дней коррекционно-заместительной терапии СЗП (в дозе 7—10 мл/кг) в сочетании с препаратом АТIII, до восстановления активности последнего, ориентировочно, до 100— 120% от нормального уровня. Роль своевременной и качественной лабораторной диагностики изменений и динамики базовых показателей коагулограммы (числа тромбоцитов, ПВ, концентрации фибриногена и активности АТIII) при этом не подлежит сомнению.

Авторы публикации приносят благодарность за предоставленные материалы по ведению 8 больных с МАК акушерам-гинекологам из Брянска (Е. С. Шевченко, К. А. Кармину) и Сыктывкара (О. Н. Лебедевой).

В заключение отметим, что наши результаты и данные литературы по этой важной проблеме получены в неконтролируемых и нерандомизированных исследованиях, иное невозможно по этическим причинам. Тем не менее накопление и дальнейший анализ случаев применения rFVIIa при купировании МАК позволят приблизиться к созданию отечественных рекомендаций для специалистов в этой области.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2011

УДК 616.38-002-031.81-089:615.38

ТРАНСФУЗИОННАЯ ГЕМОКОРРЕКЦИЯ НА ЭТАПАХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ

В.Г. Лубянский*[1], А. Л. Момот[2], А.Н. Жариков[1]

[1] Кафедра госпитальной хирургии (зав. - проф. В. Г Лубянский) ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, Барнаул; [2]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» (директор - проф. А. П. Момот) Минздравсоцразвития РФ, Барнаул

Авторами проанализировано состояние 30 больных, поступивших в клинику с послеоперационным перитонитом, В соответствии с показателями тяжести состояния (шкала APACHE II) и характером течения перитонита (Мангеймский индекс перитонита и индекс брюшной полости) были сформированы три группы пациентов, у которых проведено динамическое исследование основных показателей системы гемостаза. Выявлено наличие в системном кровотоке тромбинемии и активации фибринолиза, что связывалось с прогрессированием нарушений микроциркуляции у больных и повышало риск несостоятельности кишечных швов вследствие локального микротромбоза и лизиса фибрина. Комплексное лечение включало обструктивные резекции тонкой кишки с отсроченным анастомозированием и парентеральное введение больным криопреципитата, являющегося донатором фибронектина, факторов VIII и XIII, антитромбина III и иммуноглобулинов. В третьей, наиболее тяжелой группе больных, с абдоминальным сепсисом и полиорганной недостаточностью, в составе комплексной терапии применялись трансфузии свежезамороженной плазмы. Легальность среди больных составила 20%, преимущественно за счет пациентов с исходной тяжелой полиорганной недостаточностью.

Ключевые слова: ***послеоперационный перитонит, обструктивная резекция тонкой кишки, отсроченный межкишечный анастомоз, лабораторные показатели системы гемостаза, криопреципитат, свежезамороженная плазма.***

Transfusion hemocorrection at the stages of surgical treatment of patients with postoperative disseminated peritonitis V. G. Lubyansky[1], A. P. Momot[2], A. N. Zharikov[1]

[1]Altaian State Medical University, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Barnaul;

[2]Altaian branch of FSBI «Hematologic Research Center», Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Barnaul

Authors analyzed 30patients who entered the clinic with postoperative peritonitis. The patients were derided into three groups according to the severity statues (scale APACHE I!) and the course of the peritonitis (Mannheim peritonitis index and Index of abdominal space) and in each group the main aspects of hemostasis system dynamic study was carrieg out. After the examination it was found out the presence of thrombinemia a id fibrinolysis in the systemic blood circulation, which encourage the progression disturbance of microcirculation and increases the risk of insolvency of intestinal sutures as a result of micro thrombosis and lysis of fibrinous clots. For the patients of group 1 and 2 multimodality therapy included obstructive enterectomy with delayed interintestial anastomosis and administer of ayoprecipitate, which is the donor of fibronectin, factor VIII, XIII, antitrombin III, Jg. In the group of patients who suffered from severe sepsis of abdominal origin and multiple organ failure, fresh frozen plasma me used to treat them. Mortality in patients with postoperative peritonitis was 20%, mainly due to patients with initial severe multiple organ failure.

Key words: ***postoperative peritonitis, obstructive enterectomy, delayed interintestinal anastomosis, laboratory parameters of hemostasis, cryoprecipitate, fresh frozen plasma.***

*Лубянский Владимир Григорьевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой. 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1.

Проблема послеоперационного перитонита остается одной из самых сложных в абдоминальной хирургии. Несмотря на совершенствование хирургической техники, внедрение высокотехнологичных методов лечения с использованием повторных санаций брюшной полости, сохраняется высокая летальность, уровень которой колеблется, по данным разных авторов, от 15 до 60% [9, 16-18]. Основными причинами прогрессирования перитонита и абдоминального сепсиса в этот период являются острые перфорации тонкой кишки и несостоятельность межкишечных анастомозов [10, 21]. Главную роль в развитии этих осложнений играют синдром системной воспалительной реакции, ДВС-синдром, с характерными для него нарушениями гемокоагуляции и микроциркуляции [3, 4, 20], включая высокую вероятность лизиса коллагена в зоне инфицированного кишечного шва [21].

Цель нашей, работы - охарактеризовать ведущие нарушения в системе гемостаза у больных с послеоперационным перитонитом и оценить эффективность использованных методов гемотрансфузионной коррекции в ходе программированных санаций брюшной полости (ПСБП).

Материал и методы

В период с 2007 по 2010 г. в клинике под наблюдением находились 30 больных с послеоперационным перитонитом. Ранее всем пациентам были выполнены первичные оперативные вмешательства в других медицинских учреждениях Алтайского края по поводу перитонита, возникшего вследствие ургентных заболеваний органов брюшной полости (табл. 1). В дальнейшем послеоперационный период у них осложнился прогрессированием распространенного перитонита, что послужило поводом к транспортировке в отделение гнойной хирургии Краевой клинической больницы. Основную часть пациентов (83%) составили мужчины. Возраст больных варьировал от 21 года до 79 лет.

Наиболее частыми заболеваниями, приведшими к развитию перитонита, были мезентериальный тромбоз с некрозом тонкой кишки, острая спаечная кишечная непроходимость и травмы соответствующей локализации. Непосредственными причинами прогрессирования воспалительного процесса и деструкции в брюшной полости явились острые перфорации тонкой кишки и несостоятельность межкишечных анастомозов.

С целью изучения статуса поступивших больных, динамики изменений показателей гемокоагуляции, а также эффективности избранной тактики лечения все они были разделены на группы в зависимости от объективной оценки тяжести состояния согласно интегральной шкале APACHE II. Степень и характер поражения органов брюшной полости оценивались с использованием Мангеймского индекса перитонита - MPI [18] и индекса брюшной полости - ИБП [16] (табл. 2).

Исследование системы гемостаза включало оценку активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) и протромбинового времени (ПВ) свертывания, концентрации фибриногена и активности антитромбина III (АТ III) (тест-системы и реагенты производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия), проводимую на коагулометре Sysmex CA-1500 (Япония) в соответствии с имеющимися рекомендациями [1]. Кроме того, исследовались уровни маркеров тромбинемии - D-димеров - твердофазным иммунометрическим методом типа сэндвич на оборудовании NycoCard Rider (Норвегия), растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) - с помощью скринингового ортофенантролинового теста,

Таблица 1

Причины развития перитонита (*n*=30)

Заболевание	Число больных	Доля (95% ДИ)
Мезентериальный тромбоз	9	30 [14,7; 49,4]
Острая спаечная кишечная непроходимость	5	16,7 [5,6; 34,7]
Травмы органов брюшной полости	6	20 [7,7; 34,7]
Ущемленная грыжа	2	6,7 [0,8; 22,1]
Панкреонекроз	3	10 [2,1:26,5]
Болезнь Крона тонкой кишки	3	10 [2,1; 26,5]
Тубоовариальная опухоль	2	6,7 [0,8; 22,1]
Всего...	30	100

Примечание. ДИ - доверительный интервал.

Таблица 2

Оценка тяжести состояния и распределение на группы поступивших больных с послеоперационным перитонитом (*n*=30)

Показатель	Тяжесть состояния, баллы		
	1-я группа (*n* = 7)	2-я группа (*n* = 15)	3-я группа (*n* = 8)
APACHE II	7 – 11 (8,7 ± 0,7)	12 – 15 (13,9 ± 0,2)	16 – 23 (18,8 ± 0,7)
	$P_{1-2} < 0,00001$	$P_{2-3} < 0,00001$	$P_{1-3} < 0,00001$
Мангеймский индекс перитонита	18,6 ±1,95	20,1 ± 1,0	22,5 ± 2,2
	$P_{1-2} = 0,459$	$P_{2-3} = 0,016$	$P_{1-3} = 0,034$
Индекс брюшной полости	18,7 ± 1,4	18,9 ± 0,7	21,9 ± 2,4
	$P_{1-2} = 0,915$	$P_{2-3} = 0,0145$	$P_{1-3} = 0,295$

а также число тромбоцитов - в камере Горяева, с использованием фазово-контрастной микроскопии. Контрольные значения коагулограммы устанавливались по результатам обследования 25 практически здоровых людей, сравнимых с пациентами по возрасту.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием программ Microsoft Offis Exel 2007, Statistica 6. Результаты исследования оценивались методом вариационной статистики с применением критерия Стьюдента (t).

у больных с тяжелым абдоминальным сепсисом на фоне гнойно-деструктивного процесса имелись более глубокие нарушения гемостаза, характеризовавшиеся низкой антикоагулянтной защитой и угнетением фибринолитических реакций, способствующие блокаде микроциркуляции в жизненно важных органах.

Во многих публикациях связь диссеминированного микротромбообразования (или тромботической микроангиопатии) с ишемией и некрозом тканей считается неоспоримой [2, 4, 8, 20]. Мы полагаем, что полученный нами спектр гемостазиологических отклонений отражает не только глубокий дисбаланс различных звеньев системы гемостаза, свойственный ДВС-синдрому, но и угнетение процессов репарации,

Таблица 3

Основные показатели гемостаза у больных с послеоперационным перитонитом при поступлении в стационар (n = 30)

Показатель	Значение изучаемого показателя			Контрольные нормальные значения
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	
Количество тромбоцитов, х 10^9/л	170,3 ± 46,4	210±24,2	157 ± 24,9*	240,0 ± 14,0
	P_{1-2} = 0,42	P_{2-3} = 0,18	P_{1-3} = 0,79	
АПТВ, с	35,3 ± 1,0	40,6 ± 2,9*	42,4 ± 2,7**	33,3 ± 0,6
	P_{1-2} = 0,61	P_{2-3} = 0,85	P_{1-3} = 0,04	
ПВ, с	19,3 ± 1,2**	16,8 ± 0,9*	23,6 ± 4,2*	14,3 ± 0,4
	P_{1-2} = 0,065	P_{2-3} = 0,048	P_{1-3} = 0,94	
Концентрация фибриногена, г/л	6,8 ± 0,3***	7,1 ± 0,5***	6,5 ± 0,6***	2,5 ± 0,1
	P_{1-2} = 0,74	P_{2-3} = 0,47	P_{1-3} = 0,49	
Активность АТ III, %	75,6 ± 5,6**	71,8 ± 2,8***	67,0 ± 1,9***	98,8 ± 2,0
	P_{1-2} = 0,5	P_{2-3} = 0,25	P_{1-3} = 0,153	
Уровень РФМК, мг/100 мл	20,9±2,3***	21,3 ± 11,5***	22,3 ± 2,1***	3,4 ± 0,2
	P_{1-2} = 0,86	P_{2-3} = 0,72	P_{1-3} = 0,66	
Количество D-димеров, нг/мл	1094,6 ± 282,5**	824 ± 153,3**	699,4 ± 79,4***	108,9 ± 11,5
	P_{1-2} = 0,37	P_{2-3} = 0,37	P_{1-3} = 0,11	

Результаты и обсуждение

Анализ показателей коагулограммы выполнялся на следующих основных этапах: при поступлении в стационар (1-й этап), во время ПСБП (2-й) и в период окончания программированных релапаротомий при хирургическом лечении перитонита (3-й).

В первую группу были включены 7 больных, тяжесть состояния которых оценивалась от 7 до 11 баллов по шкале APACHE II. Во вторую группу вошли 15 пациентов, у них диапазон значений по APACHE II составил 12-15 баллов, MPI был равен 20, а ИБП - 19 баллов. Наиболее тяжелые больные (8 человек), имевшие явные признаки полиорганной недостаточности, были отнесены к 3-й группе, где показатель по APACHE II при поступлении достигал 23 баллов.

При дальнейшем анализе результатов выявлена устойчивая взаимосвязь ряда важных показателей системы гемостаза со степенью тяжести обследованных больных. Определено, что выраженность органной дисфункции по шкале APACHE II в 1-й, 2-й и 3-й группах находилась в обратной связи с активностью АТ III (r_S = - 0,8; АТ III - 75,6 ±5,6, 71,8 ±2,8, 67,0 ± 1,9% соответственно), как и с содержанием D-димеров в плазме крови (r_S = -0,363; D-димеры - 1094,6 ± 282,5, 824 ± 153,3, 699,4 ± 79,4 нг/мл соответственно). Из этого следует, что критически важных для обеспечения жизнеспособности тканей. Непосредственное отношение к этому имеют фибронектин и другие адгезивные белки, уровень которых у больных с перитонитом заметно снижается. Известно, что фибронектин помимо других свойственных ему функций опсонирует инкапсулированные грамположительные бактерии (стафилококки и др.), способствуя их дальнейшей утилизации нейтрофилами [5, 7, 19, 23, 24].

Учитывая выявленные нарушения гемокоагуляции, основной хирургической задачей было выиграть время для проведения коррекции этих нарушений, эффективно санировать брюшную полость и наложить межкишечный анастомоз в более благоприятных условиях. Для этого у больных с послеоперационным распространенным перитонитом были применены обструктивные резекции тонкой кишки с временным прекращением пассажа по кишечнику и наружным дренированием приводящих отделов с использованием кишечной интубации на срок от 2 до 4 сут [9, 17, 18].

Во время релапаротомии после уточнения характера, распространенности гнойно-воспалительного процесса в брюшной полости, причины образования дефекта в стенке тонкой кишки (острая перфорация, несостоятельность

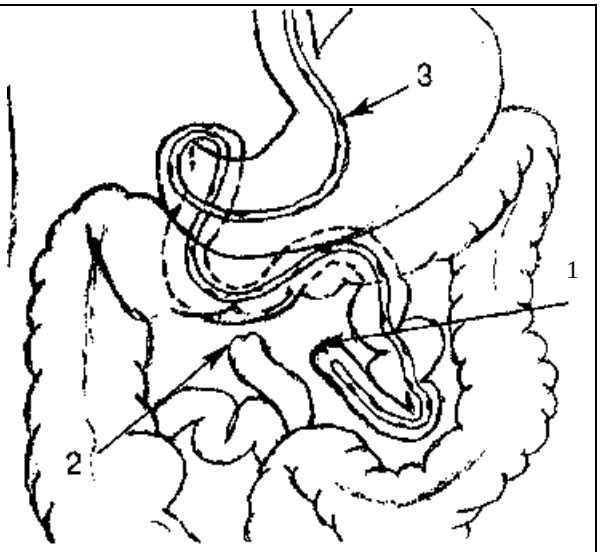


Схема обструктивной резекции тонкой кишки:
1 - культя приводящего отдела тонкой кишки;
2 - культя отводящего отдела тонкой кишки;
3 - назоинтестинальный зонд

швов межкишечного анастомоза) выполняли резекцию пораженного участка тонкой кишки с формированием культи приводящего и отводящего отделов тонкой кишки (см. рисунок).

Заглушенные участки тонкой кишки не выводились на переднюю брюшную стенку, а оставлялись в брюшной полости. Декомпрессия тонкой кишки осуществлялась с помощью трансназальной интубации ее приводящих отделов с последующей активной аспирацией содержимого. Операция заканчивалась санацией брюшной полости физиологическим раствором в объеме до 5-6 л и дренированием [12].

Наряду с хирургическим лечением в целях компенсации потерь фибронектина, фактора XIII, иммуноглобулинов и других адгезивных белков, АТ III, то есть стимулирования репаративных процессов и восстановления баланса гемостатических реакций, у больных первой и второй групп (при показателе по шкале APACHE II не более 15 баллов) было использовано внутривенное введение криопреципитата [23] на протяжении 5-7 сут. Этим пациентам (n = 22) ежедневно вводилось от 3 до 5 доз криопреципитата (производства Алтайской краевой станции переливания крови). Остальным больным (n = 8) с тяжелым абдоминальным сепсисом на фоне послеоперационного перитонита (3-я группа) криопреципитат был не показан в связи с опасностью усугубления органной дисфункции, и в качестве альтернативы у них применялись трансфузии свежезамороженной плазмы (СЗП) в дозе 15-20 мл/кг массы тела в сочетании с гепаринотерапией (20 тыс. ед/сут), в соответствии с рекомендациями З. С. Баркагана и А. И. Воробьева [2, 6]. Опасность применения криопреципитата по сравнению с СЗП в этой ситуации была обусловлена его более тромбогенным воздействием. Это связано со значительно большей концентрацией в криопреципитате крупномолекулярных адгезивных белков - фибриногена (около 7,0 г/л), фибронектина, фактора VIII, фактора Виллебранда, фактора XIII и др. В то же время криопреципитат, как известно, содержит аналогичное СЗП количество физиологических антикоагулянтов - антитромбина III и компонентов протеина С. Эти особенности и придают криопреципитату сравнительно большие тромбогенные свойства и способность усугублять блокаду микроциркуляции и органную дисфункцию у больных с инфекционным ДВС-синдромом.

Хирургическая тактика в дальнейшем строилась по принципу программированных санаций брюшной полости [16-18]. Через 48 ч выполнялась релапаротомия «по программе» с оценкой инфильтрации и воспаления, как в проекции стенки кишки, так и брюшины, степени фибринозных наложений, количества и характера перитонеального экссудата. В ряде случаев при интраоперационной ревизии сохраняющиеся воспалительные изменения не позволяли выполнить отсроченное анастомозирование во время второй релапаротомии, и мы ограничивались лишь санацией брюшной полости. В 10% наблюдений была выполнена третья программированная санация брюшной полости - спустя 4 сут после обструктивной резекции тонкой кишки.

После проведения этапа программированных релапаротомий отмечалась положительная динамика в виде роста числа тромбоцитов в крови в первой (в 2,45 раза) и второй (в 1,52 раза) группах, а также незначительного их увеличения в 3-й группе - на 13% (табл. 4). Эти результаты мы рассматриваем как важный положительный признак - уменьшение системного потребления тромбоцитов и смещение равновесия в сторону тромбоцитопоэза в случаях перитонита с умеренной органной дисфункцией (по шкале APACHE II).

Предпринятая тактика обструктивных резекций тонкой кишки с введением в послеоперационном периоде криопреципитата или СЗП сопровождалась укорочением протромбинового времени свертывания в первой и второй группах наблюдения (в среднем до 14,1 ± 1,1 и 13,4 ± 0,5 с соответственно) и в меньшей степени - в третьей группе (в среднем до 15,0 ± 1,6 с), что указывало на адекватное возмещение дефицита факторов свертывания и относительное восстановление гемостатической функции гепатоцитов. Схожая тенденция наблюдалась и при оценке внутреннего пути свертывания крови - по результатам АПТВ.

К окончанию периода программированных санаций брюшной полости имело место заметное, хотя и не до уровня нормы, снижение концентрации фибриногена в крови, что свидетельствовало о снижении интенсивности воспалительного процесса у всех пролеченных больных. Однако активность основного физиологического антикоагулянта — АТ III восстанавливалась до нормальных показателей (80 - 120%) только в первой и второй группах. Это интересное наблюдение позволяет считать, что криопреципитат в использованных в настоящей работе дозах, так же как и СЗП, является эффективным донатором АТ III и его клиническое применение также способно влиять на системное равновесие гемостатических реакций [20].

Тем не менее в группе наиболее тяжелых больных, несмотря на использование адекватных трансфузий СЗП и проводимые санации брюшной полости, активность АТ III в плазме крови не только не повышалась, но снижалась до еще более низких значений (в среднем до 60,3 ± 2,2%), что ассоциировалось с высокой летальностью (табл. 5). Эти данные соответствуют ранее опубликованным одним из авторов настоящей статьи выводам, согласно которым отрицательная динамика активности АТ III, протеина С, плазминогена и сравнительно низкие показатели уровня D-димеров у тяжелых больных с ДВС-синдромом и

полиорганной недостаточностью имеют негативное прогностическое значение [14], и это связывалось низким восстановлением (деблокадой) микроциркуляции в жизненно важных органах.

Об этом свидетельствует также кратность снижения уровня D-димеров - общепринятого маркера состоявшегося фибринообразования и фибринолиза [1,11,15] в крови больных с перитонитом до и после проведения комплексной терапии. В частности, в первой группе больных, с индексом по APACHE II менее 12 баллов, количество D-димеров снизилось в 2,17 раза, в то время как при более тяжелой полиорганной недостаточности у больных во 2-й и 3-й группах - соответственно лишь в 1,33 и 1,39 раза (см. табл. 4). Однако при оценке динамики этого показателя у выживших и умерших больных мы не получили столь значимых различий (см. табл. 5). Еще один показатель тромбинемии - растворимые фибрин-мономерные комплексы в плазме крови больных - был значительно повышен на протяжении всего периода госпитализации, хотя и закономерно снижался в процессе лечения (см. табл. 4). Наименьшее количество этих комплексов определялось у больных с герминальной стадией заболевания, с тяжелой коагулопатией потребления - конечной стадией ДВС-синдрома (см. табл. 5), когда эффективность гемостатических реакций сводилась к минимуму, что соответствовало имеющимся в литературе данным и подтверждало низкую эффективность гепаринотерапии на этой стадии заболевания [13].

Характеризуя выявленные нарушения гемостаза у больных с перитонитом в целом, можно выделить преобладание сдвигов, участвующих в формировании блокады микроциркуляции, - тромбоцитопении, выраженной тромбинемии, а также истощения активности АТ III. Все это отражало дисбаланс в системе свертывания крови со срывом компенсаторных возможностей организма. В этих условиях восстановление

Таблица 4

Динамика показателей гемостаза в группах больных с послеоперационным перитонитом до и после проведения программированных санаций брюшной полости

Показатель	Значение изучаемого показателя					
	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
	до санаций (1)	после (2)	до санаций (3)	после (4)	до санаций (5)	после (6)
Количество тромбоцитов, х 10^9/л	170,3 ± 47	417,1 ± 45**	210,0 ± 24,2	318,3 ± 44,4	157,0 ± 24,9	176,8 ± 25,2*
		P_{1-2} = 0,0024		P_{3-4} = 0,04		P_{5-6} = 0,74
АПТВ, с	35,3 ± 1,2	30,1 ± 1,0*	40,6 ± 2,9	36,7 ± 7,5*	42,4 ± 2,7	48,4 ± 6,3**
		P_{1-2} = 0,007		P_{3-4} = 0,71		P_{5-6} = 0,58
ПВ, с	19,3 ± 1,2	14,1 ± 1,1	16,8 ± 0,9	13,4 ± 0,5*	23,6 ± 4,2	15,0 ± 1,6
		P_{1-2} = 0,009		P_{3-4} = 0,0018		P_{5-6} = 0,074
Концентрация фибриногена, г/л	6,8 ± 0,3	4,6 ± 0,3***	7,1 ± 0,5	4,96 ± 0,4***	6,5 ± 0,6	4,4 ± 0,5***
		P_{1-2} = 0,0004		P_{3-4} = 0,031		P_{5-6} = 0,02
Активность АТ III, %	75,6 ± 5,6	92,7 ± 4,7	71,8 ± 2,8	91,1 ± 5,5	67,0 ± 1,9	60,3 ± 2,2***
		P_{1-2} = 0,036		P_{3-4} = 0,004		P_{5-6} = 0,038
Уровень РФМК, мг/100 мл	20,9 ± 2,3	14,7 ± 1,3***	21,3 ± 1,5	16,2 ± 2,0***	22,3 ± 2,1	16,5 ± 2,0***
		P_{1-2} = 0,039		P_{3-4} < 0,046		P_{5-6} = 0,07
Количество D-димеров, нг/мл	1095,0 ± 283,0	505,0±177,3***	824,0 ± 153,3	620,3 ± 66***	700,0 ± 79,4	503,0 ± 43,1***
		P_{1-2} = 0,047		P_{3-4} = 0,23		P_{5-6} = 0,046

Таблица 5

Изменения показателей гемостаза у выживших и умерших больных с послеоперационным перитонитом при поступлении и после лечения

Показатель	Выжившие (я=24)		Умершие *(п-в)*	
	до лечения (1)	после (2)	до лечения (3)	после (4)
Количество тромбоцитов, х 10^9/л	191,5 ± 20,9	374,4 ± 37,4**	166,2 ± 27,1*	59,7 ± 14,2***
	P_{1-2} = 0,00098	P_{1-3} = 0,571	P_{2-4} = 0,0003	P_{3-4} = 0,0059
АПТВ, с	38,9 ± 4,4	29,6 ± 0,8**	42,3 ± 2,8**	78,5 ± 15,7*
	P_{1-2} < 0,0001	P_{1-3} = 0,693	P_{2-4} < 0,0001	P_{3-4} = 0,048
ПВ, с	17,2 ± 0,8**	13,4 ± 0,4	25,6 ± 5,4*	16,4 ± 1,8
	P_{1-2} = 00006	P_{1-3} = 0,009	P_{2-4} = 0,016	P_{3-4} = 0,054
Концентрация фибриногена, г/л	6,8 ± 0,3***	4,8 ± 0,3***	7,1 ± 0,8***	4,8 ± 0,7***
	P_{1-2} = 0,00039	P_{1-3} = 0,76	P_{2-4} = 0,957	P_{3-4} = 0,054
Активность АТ III, %	75,0 ± 3,3**	96,5 ± 5,2	69,1 ± 4,4***	59,6 ± 2,3***
	P_{1-2} = 0,0015	P_{1-3} = 0,632	P_{2-4} = 0,0002	P_{3-4} = 0,084
Уровень РФМК, мг/100 мл	21,4 ± 1,2***	17,3 ± 1,5***	21,8 ± 2,6***	12 ± 1,4***
	P_{1-2} = 034	P_{1-3} = 0,862	P_{2-4} = 0,09	P_{3-4} = 0,0067
Количество D-димеров, нг/мл	831,2 ± 120***	564 ± 55,3***	959,5 ± 318**	672,3 ± 35,4***
	P_{1-2} = 0,049	P_{1-3} = 0,624	P_{2-4} = 0,322	P_{3-4} = 0,375

дефицита компонентов гемостаза и адгезивных белков при трансфузиях криопреципитата и/или СЗП позволило улучшить репарационные возможности кишечной стенки при наложении соустья, а многоэтапное

хирургическое лечение брюшной полости способствовало ликвидации фибринозных наложений и уменьшению воспалительной инфильтрации тканей.

Отметим, что объективным критерием к наложению отсроченного межкишечного анастомоза во время санации служила регрессия острого воспаления в брюшной полости, определяемая по наличию светлого перитонеального экссудата, редким отложениям фибрина, блестящему серозному покрову, а также уменьшению отека и видимой инфильтрации кишечной стенки. При благоприятном течении воспалительного процесса, снижении ИБП (<10 баллов), а также стабилизации состояния больного (по шкале APACHE II <12 баллов) накладывался отсроченный межкишечный энтеро-энтероанастомоз по типу бок в бок или конец в конец [9, 10, 12] с использованием атравматического шовного материала. После наложения соустья в целях улучшения кровообращения медикаментозная терапия включала дополнительное парентеральное введение трентала в суточной дозе 5,0 мл и фраксипарина по 0,3 мл (подкожно) один раз в день в течение 7-10 сут.

Наиболее часто обструктивные резекции и отсроченное анастомозирование были востребованы по поводу мезентериального тромбоза - у 9 (30%) больных и после операций по поводу острой спаечной кишечной непроходимости - у 5 (16,7%) больных. Из анастомозов наиболее часто применяемыми были еюнотрансверзоанастомоз, илеотрансверзоанастомоз и энтеро-энтероанастомоз.

Таким образом, благодаря избранной тактике лечения из 30 больных с послеоперационным перитонитом удалось сохранить жизнь 24 пациентам. Вместе с тем, несмотря на проводимое комплексное лечение, умерли 6 (20%) тяжелых больных (2 - из второй и 4 - из третьей групп), из них 4 больных были с мезентериальным тромбозом, 1 - со спаечной кишечной непроходимостью и еще 1 - с ущемленной грыжей. Тяжесть состояния у этих пациентов при поступлении составила по APACHE II - 16,2 ± 1,02, по MPI - 27,5 ± 1,7, а по ИБП - 23,3 ± 2,7 балла. Во всех этих случаях наблюдались глубокие, деком пенсированные нарушения гемостаза.

Выводы

1. У больных с распространенным перитонитом существует глубокий дисбаланс между различными звеньями системы гемостаза, как следствие массивной активации внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома) на фоне несостоятельности физиологически запрограммированной антикоагулянтной защиты. Это является предпосылкой для развития полиорганной недостаточности, нарушений микроциркуляции, способствующих риску несостоятельности кишечных швов и возникновению острых перфораций кишечной стенки.

2. Использование в комплексном лечении у больных плановых санаций брюшной полости и отсроченного межкишечного анастомозирования в комплексе с внутривенными инфузиями криопреципитата (в качестве источника фибронектина, фактора VIII, фактора Виллебранда и других адгезивных белков), а также АТ III способствует восстановлению баланса гемостатических реакций, уменьшает риск несостоятельности межкишечных анастомозов и сопутствующих летальных исходов.

3. Пациентам с тяжелым абдоминальным сепсисом (полиорганной недостаточностью) показаны объемные трансфузии СЗП, эффективность и достаточность которых может быть определена по восстановлению до нормальных значений активности АТ III.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баркаган, З. С.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза/З. С. Баркаган, А. П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2008. - 292 с.
2. *Баркаган, З. С.* Руководство по гематологии: в 3 т. Т, 3 / З. С. Баркаган; под ред. А. И. Воробьева. - 3-е изд. — М.: Ньюдиамед, 2005. — 416 с.
3. *Баркаган, З. С.* Связь эффективности лечения воспалительно-деструктивных заболеваний с деблокадой микроциркуляции в пораженных органах / З. С. Баркаган, Я. Н. Шойхет, М. М. Бобоходжаев// Вестник РАМН. - 2000.- № 11. - С, 25-29.
4. *Баркаган, З.* С. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома / З. С. Баркаган, А. П. Момот // Вестник гематол. - 2005. - Т. I, № 2. - С. 5-14.
5. *Бондарев, Ю. В.* Влияние гемоспленоперфузии на динамику фибронектина в плазме крови у больных с перитонитом / Ю. В. Бондарев, Р. А. Зулкарнеев, О. Д. Зинкевич и др. // Казанский мед. журн. - 1992, - № 1. - С. 5-7.
6. *Воробьев, А. И.* Острая массивная кровопотеря / А. И. Воробьев, В. М. Городецкий, Е. М. Шулутко, С. А. Васильев. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2001. - 176 с.
7. *Воробьев, А. И.* Руководство по гематологии / А. И. Воробьев. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.; Медицина, 1985. - Т. I. - С. 82-83.
8. *Городецкий, В. М.* Нарушение системы гемостаза / В. М. Городецкий, П. М. Галстян, Е. М. Шулутко // Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2 т.; под ред. Б. Р. Гельфанда, А. И. Сал- танова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - Т. I. - С. 142-145.
9. *Григорьев, Е. Г.* Хирургия послеоперационного перитонита / Е. Г. Григорьев, А. С. Коган. - Иркутск, 1996. — 216с.
10. *Зубрицкий, В. Ф.* Формирование энтеро-энтероанастомоза в условиях перитонита и повышенною внутрибрюшного давления / В. Ф. Зубрицкий, И. С. Осилов. А. Л. Левчук и др. // Вестник нац. медико-хир. центра им. Н. И. Пирогова. - М., 2010. - С. 14—17.
11. *Илюкевич, Г. В.* Эффекты применения раствора гидроксиэтилированного крахмала у больных с острым распространенным перитонитом / Г. В. Илюкевич, О. И. Светлицкая, Е. Г. Оганова // Мед. новости. - 2008. - № 12. - С. 99-102.
12. *Лубянский, В. Г.* Хирургическая тактика у больных с послеоперационным распространенным перитонитом, связанным с перфорацией тонкой кишки / В. Г. Лубянский, А. Н. Жариков // Инфекции в хир. - 2010. - Т. 8, № 4. - С. 64-67.
13. *Момот, А. П.* Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики / А. П. Момот. - СПб: ФормаТ, 2006.- 208 с.
14. *Момот, А. П.* Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома / А. П. Момот, А. Н. Мамаев // Клинич. онкогематол. - 2008. - Т. 1, № I. - С. 63-71.
15. *Рыбинцев, В. Ю.* Мониторинг и пути коррекции нарушений в системе гемостаза у хирургических больных в критических состояниях с полиорганной недостаточностью: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В. Ю. Рыбинцев. - М., 2006. - 23 с.
16. *Савельев, В. С.* Абдоминальная хирургическая инфекция. Российские национальные рекомендации / В. С. Савельев, Б. Р. Гельфанд и редакционный совет. - М., 2011. - 99 с.
17. *Савельев, В.* С. Программированные релапаротомии в лечении распространенного перитонита, варианты тактических решений / В. С. Савельев, М. И. Филимонов, Б. Р. Гельфанд и др. // Инфекции в хир. - 2009. - Т. 7, № 4. - С. 26-31.
18. *Савельев, В.* С. Релапаротомия в хирургии распространенного перитонита / В. С. Савельев, М. И. Филимонов, П. В. Подачин, В. А. Ступин // Инфекции в хир. - 2007. - Т. 5, № 3. - С. 6-13.
19. *Федоров, Н. А.* Фибронектин крови и фагоцитарная функция печени у больных перитонитом / Н. А. Федоров, Д.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ГЕРМЕТИЗАЦИИ ТОНКОКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА ПРИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИТОНИТЕ ПРЕПАРАТАМИ КРОВИ, ОБРАЗУЮЩИМИ ФИБРИН

В. Г. Лубянский[1], А. Н. Жариков[1], А. П. Момот[2], Г. А. Арутюнян[1]

[1]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Барнаул)
[2]ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (г. Барнаул)

В экспериментальном исследовании на модели послеоперационного распространенного перитонита разработан способ биологической герметизации межкишечных анастомозов с использованием сухого лиофилизированного криопреципитата и раствора тромбина. Дана сравнительная оценка однорядных межкишечных энтероэнтероанастомозов, наложенных по типу «конец в конец» с укреплением искусственно сформированной фибриновой пленкой (основной) и без укрепления (контрольный). Установлено, что в условиях перитонита аппликация полученного фибринового клея повышает герметичность применяемого соустья по сравнению с анастомозами, использующимися без дополнительной защиты.

Ключевые слова: послеоперационный перитонит, анастомоз, криопреципитат, фибрин.

Введение. Несмотря на все достижения хирургии, несостоятельность швов полых органов и образование несформированных кишечных свищей являются причиной ранней релапаротомии и непосредственной причиной смерти 50–86 % больных после операций на органах брюшной полости [4, 8]. В условиях перитонита и программированных санаций брюшной полости происходит уменьшение количества фибрина в зоне кишечного шва с последующим ослаблением процессов регенерации и биологической герметичности [7]. Этим обуславливается высокая частота несостоятельности швов межкишечных анастомозов. В хирургии известны различные методы укрепления кишечных швов: клеевая композиция «Сульфакрилат» [2], различные фибриновые клеи [1, 6, 9], экстраперитонизация межкишечного соустья [3], использование консервированных аллотрансплантантов [5], фибрин-коллагеновой субстанции «Тахокомб» [7]. Однако, они наряду с известными достоинствами имеют ряд недостатков, например, использование химических препаратов в составе клея с возможным местным токсическим действием на стенку кишки («Сульфакрилат»), медленная полимеризация фибриновых клеев и трудоемкость приготовления («Тиссукол-Кит»), высокая стоимость («Тахокомб») и т. д.

Таким образом, разработка новых биологических компонентов для укрепления кишечных швов в условиях послеоперационного перитонита представляется актуальной.

Материалы и методы исследования. Нами проведены эксперименты на 15-ти животных (беспородные собаки весом от 20 до 28 кг) с моделированием послеоперационного распространенного перитонита (разрешение этического комитета № 3 от 11.03.2012). Все операции выполнялись на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии АГМУ в условиях операционной и проводились под внутриплевральным наркозом (тиопентал натрия) с добавлением в/м раствора кетамина и сибазона. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало морально-этическим принципам проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированным Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в Этическом кодексе, 1985 (раздел «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных»); Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (2000); правилах, принятым в АГМУ.

Для создания фибриновой пломбировки в зоне кишечного шва в эксперименте использовался сухой лиофилизированный криопреципитат. Он представляет собой смесь высокомолекулярных белков, осажденных из свежезамороженной плазмы. В нем содержится фибриноген, антитромбин III, фактор XIII, фактор VIII и фибронектин. Для получения стабильного фибрина и фиксации этой композиции в месте анастомоза в сухой криопреципитат добавлялся раствор тромбина, являющийся ферментом системы свертывания крови человека, животных, участвующий на конечном этапе свертывания крови и остановки кровотечений. Продукт является белковым препаратом, полученным из карантинизированной плазмы крови человека, выпускаемым ООО фирма «Технология-Стандарт», г. Барнаул. Исследованиями, проведенными в Алтайском филиале ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, установлено, что при взаимодействии сухого криопреципитата с раствором тромбина быстро формируется фибриновая пленка с высоким уровнем адгезии к биологическим тканям (Момот А. П.).

Животным выполнялось моделирование суточного перитонита путем вскрытия просвета подвздошной кишки и подшивания слизистой оболочки к париетальной брюшине, а также перевязкой и пересечением сегментарных сосудов брыжейки тонкой кишки. Через 24 часа выполнялась программированная релапаротомия. После санации брюшной полости производилась резекция пораженного участка тонкой кишки с наложением однорядного межкишечного энтероэнтероанастомоза по типу «конец в конец» с использованием атравматической нити «Моносин» 4,0. Для контроля выше первого анастомоза на 20 см после предварительного пересечения тонкой кишки накладывался второй межкишечный энтероэнтероанастомоз «конец в конец» с использованием также атравматического материала. Перед погружением в брюшную полость и зашиванием срединной раны на серозный покров тонкой кишки по всей окружности одного из анастомозов (основной) делалась аппликация 30–40 г сухого лиофилизированного криопреципитата. Для получения стабильного фибрина и фиксации его по всей окружности анастомоза в сухой криопреципитат по каплям из шприца добавляли 4–5 мл стерильного тромбина 150 ед. NIH/мл, растворенного в 5 % растворе аминокапроновой кислоты. Через 20–30 с после добавления второго раствора в области межкишечного анастомоза начинали активизироваться процессы образования гелеобразной фибриновой пленки, адгезивные свойства которой постепенно увеличивались и достигали максимума к 5-й минуте (рис. 1).

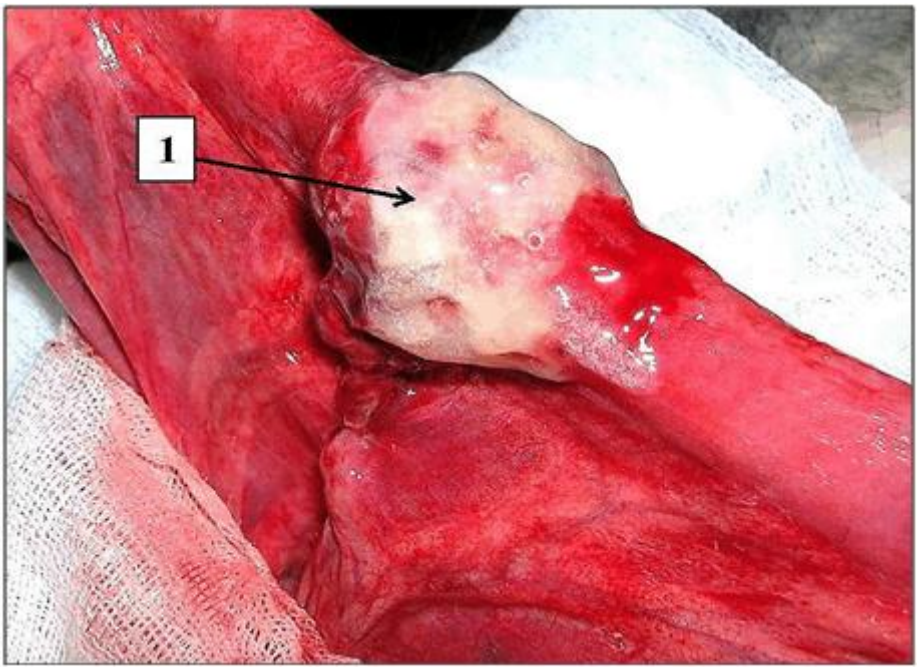


Рис. 1. Экспериментальное исследование: 1 — формирование фибриновой пленки в области энтероэнтероанастомоза с использованием сухого криопреципитата и раствора тромбина

Через 60 с в зоне анастомоза осуществлялась повторная аппликация двухкомпонентного состава (манипуляции с последовательным нанесением сухого криопреципитата и раствора тромбина) с формированием плотного фибринового сгустка в виде герметизирующей швы гелеобразной пленки. С анастомозом, послужившим контролем, никаких манипуляций не проводили. В дальнейшем тонкая кишка с основным и контрольным анастомозами погружалась в брюшную полость, и срединная рана зашивалась наглухо. На 3-и сутки послеоперационного периода животным под тиопенталовым внутриплевральным наркозом в стерильных условиях производили релапаротомию, во время которой оценивали визуальное состояние наложенных анастомозов. Учитывалась механическая прочность, соприкосновение слизистых оболочек сшиваемых сегментов кишки, проходимость соустья, интенсивность воспалительного инфильтрата в зоне шва, возникновение несостоятельности, выраженность воспалительного и спаечного процессов.

Результаты и обсуждение. Во время программированной релапаротомии признаков несостоятельности обоих анастомозов не выявлено. При визуальном осмотре было установлено, что в зоне швов основного анастомоза имелась плотно фиксированная циркулярная фибриновая пленка белого цвета. Шовный материал под пленкой практически не виден. При попытке разделения она не отделялась или удалялась с трудом. При вскрытии просвета кишки анастомоз был свободно проходим и герметичен, воспалительные изменения выражены незначительно. Швы на контрольном анастомозе также были состоятельны, однако к области незакрытых лигатур часто фиксировалась прядь сальника или петля тонкой кишки. По линии соустья в области соприкосновения слизистых оболочек были видны кровоизлияния (рис. 2).

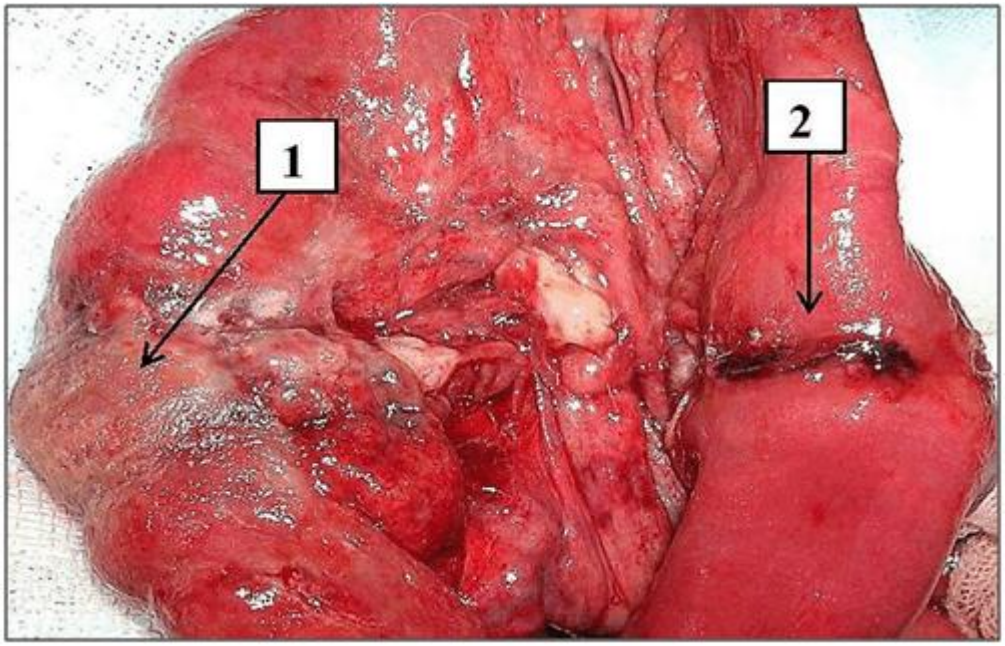


Рис. 2. Экспериментальное исследование. Релапаротомия через 48 часов: 1 — основной межкишечный анастомоз покрыт плотным фибриновым сгустком, 2 — на контрольном межкишечном анастомозе фибрина нет

В конце релапаротомии выполнялась резекция всей тонкокишечной петли с двумя анастомозами для проведения пробы на герметичность и морфологическое исследование, и накладывалось окончательное межкишечное соустье по типу «конец в конец». Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Для проверки герметичности основного и контрольного анастомозов была использована проба на гидропроницаемость. Предварительно на одинаковые резецированные концы кишки с анастомозами накладывались зажимы. Через отверстие в одном конце кишки большим шприцом подавалась вода, а через другой конец кишки через трубку удалялся воздух. После полного удаления воздуха выпускной конец кишки перекрывался. В момент, когда линия анастомоза начинала пропускать жидкость, прекращалась подача воды, и фиксировалось ее количество, потраченное для появления признаков несостоятельности. Было отмечено, что при нагнетании 60 мл жидкости происходило просачивание жидкости через швы контрольного анастомоза, тогда как в основном анастомозе это проявлялось при введении более 120 мл.

При морфологическом исследовании учитывался характер воспалительной реакции и сосудистых изменений в области швов и в искусственно созданной фибриновой пленке. Оценивались характер фибробластической реакции, регенерация слизистой оболочки. Световую микроскопию с увеличением от 10×4 до 10×100 проводили на парафиновых срезах (8–10 мнк) с окраской препаратов по гемотоксилин-эозин, Пикро-Маллори 2 (рис. 3).

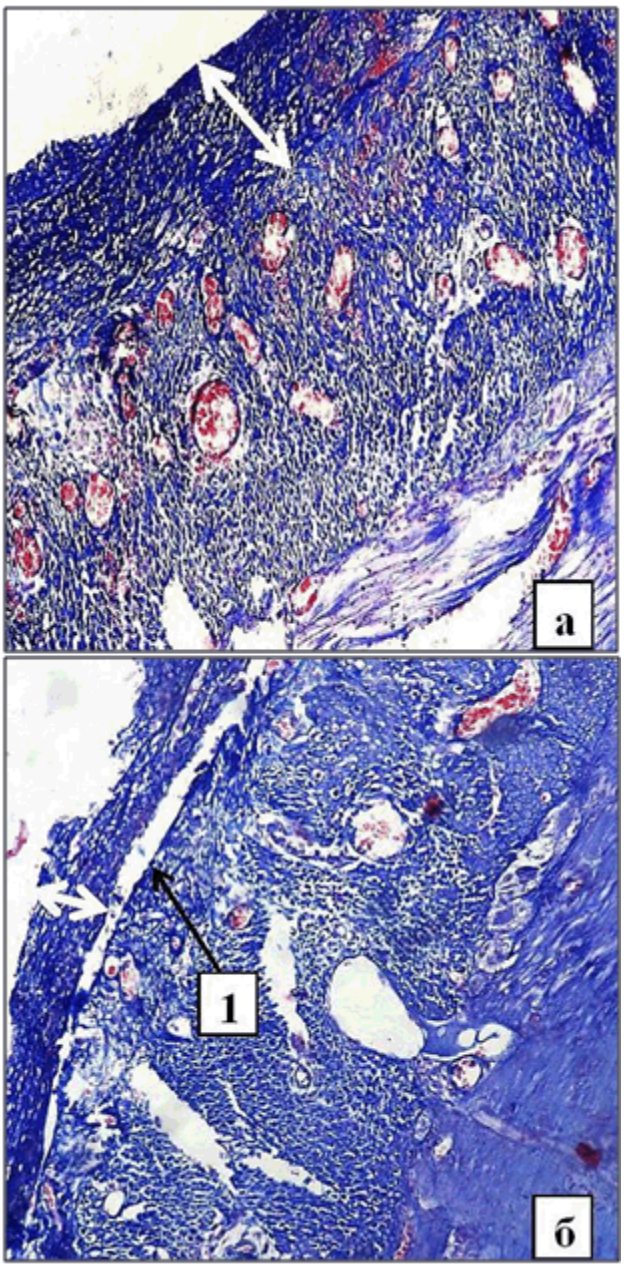


Рис. 3. Экспериментальное исследование. Морфологическое исследование основного (а) и контрольного (б) межкишечных анастомозов. Двойная стрелка — толщина фибрина, 1 — отслоение фибрина на фоне отека. Окраска Пикро-Маллори 2, увеличение ×10

При гистологическом исследовании основного анастомоза с герметизацией швов отмечено наличие на серозной оболочке плотных слоев фибрина, равномерно фиксированных на поверхности с большим количеством сосудов в подлежащих тканях. На серозной оболочке анастомоза без укрепления кишечных швов (контрольный) также имелись фибринозные наложения, однако толщина их была значительно меньше по сравнению с основным соустьем, кроме того вследствие отека они были отслоены от серозной оболочки и имели разорванный вид. Созданная искусственная фибриновая пленка основного анастомоза в глубоких слоях имела ячеистую структуру с незначительной лейкоцитарной инфильтрацией в ней и в серозной оболочке (рис. 4а).

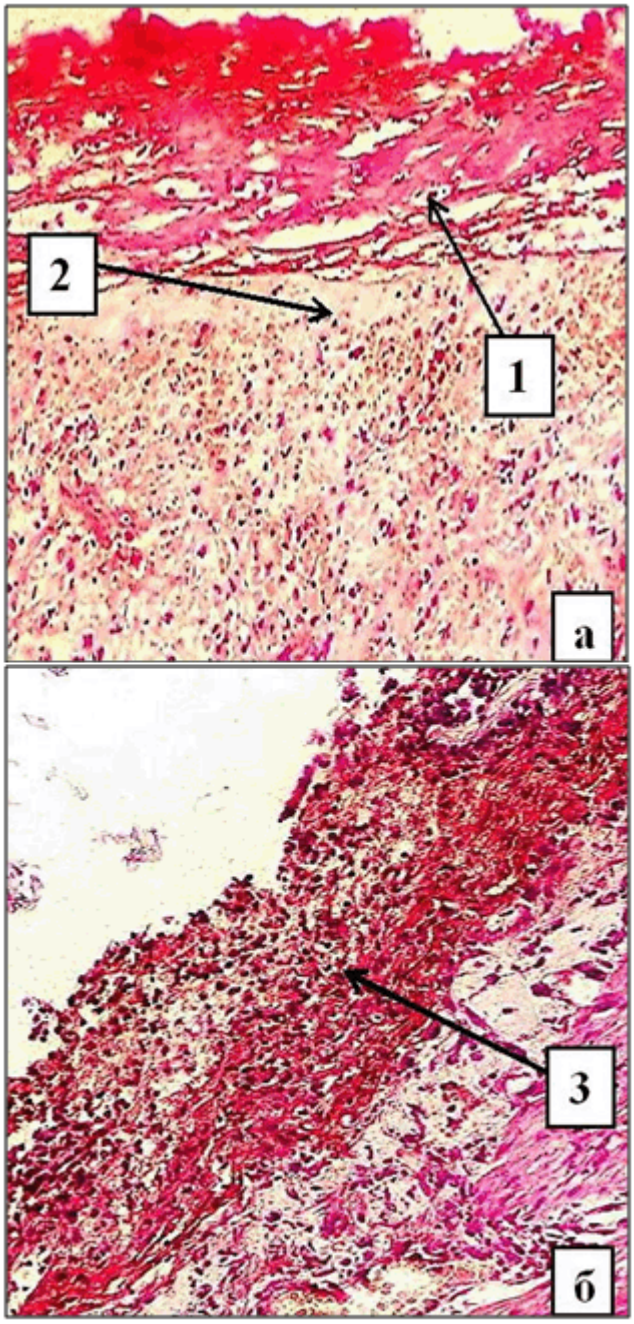


Рис. 4. Экспериментальное исследование. Морфологическое исследование основного (а) и контрольного (б) межкишечных анастомозов. Фибриновая пленка (1) покрывает серозную оболочку кишки (2). Лейкоцитарная инфильтрация (3). Окраска гемотоксилин-эозин, увеличение ×200

При морфологическом исследовании контрольного анастомоза самостоятельно образовавшиеся фибринозные наложения на серозной оболочке были плотные с более выраженной в них лейкоцитарной инфильтрацией.

В последующем в хирургической клинике метод герметизации кишечных швов с использованием криопреципитата и тромбина был применен у 21-го пациента с послеоперационным перитонитом (патент № 2464942 от 27.10.2012). В основной группе после выполнения резекции кишки при плановых санациях брюшной полости проводилось отсроченное межкишечное анастомозирование. В контрольной группе выполнялось традиционное хирургическое лечение, включающее первичное анастомозирование без дополнительного укрепления кишечных швов. Наиболее частыми заболеваниями в структуре причин послеоперационного перитонита явились острая спаечная кишечная непроходимость (20,3 %), мезентериальный тромбоз (17,4 %), острые перфорации тонкой кишки на фоне болезни Крона или ангиодисплазии (13,8 %), травмы органов брюшной полости (11,7 %). Особенно тяжело послеоперационный перитонит протекал у 10-ти (21,7 %) больных с некрозом тонкой кишки на фоне мезентериального тромбоза, который в ряде случаев сочетался и с некрозом правой половины ободочной кишки. Всего было прооперировано 30 больных

с энтероэнтероанастомозом (65,2 %) и 16 больных с энтеротрансверзоанастомозом (34,8 %). Группы были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести состояния (APACHE II — баллы), количеству реопераций до наложения анастомоза (см. табл.).

Результаты лечения больных послеоперационным перитонитом с укреплением и без укрепления межкишечного анастомоза препаратами, образующими фибрин

Показатели	Группы больных	
	1 группа (n = 21)	2 группа (n = 25)
APACHE II (баллы)	14,7 ± 0,7	15,9 ± 0,2
Количество реопераций до наложения анастомоза	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,3
Количество реопераций после наложения анастомоза	1,5 ± 0,2*	3,2 ± 0,3*
Несостоятельность применяемых анастомозов	2 ± 0,3*	7 ± 0,2*
Летальность, %	3 (15 %)*	8 (32 %)*

Примечание: * — значимость различий в группах, $p < 0,05$

В послеоперационном периоде было установлено, что в основной группе с отсроченным анастомозированием и укреплением анастомозов с использованием сухого криопреципитата и раствора тромбина имело место более значимое снижение количества плановых санаций брюшной полости, случаев несостоятельности соустья и летальности.

Выводы

1. Применяемый состав препаратов для повышения герметизации межкишечных анастомозов, состоящий из сухого лиофилизированного криопреципитата и раствора тромбина, обладает способностью к быстрому образованию фибриновой пленки, гомологичностью и безопасностью по отношению к тканям человека, хорошо проникает в зону шва и заполняет отверстия от вколов иглы, позволяет равномерно закрыть анастомоз по окружности.
2. При нанесении на раневую поверхность тонкой кишки биологического состава препаратов в зоне кишечных швов образуется фиксированная фибриновая пленка, которая к четвертым суткам послеоперационного периода сохраняет хороший адгезивный эффект.
3. Проведение проб на гидропроницаемость, морфологических исследований основного и контрольного соустья показало более надежную герметизацию анастомоза, в укреплении которого использовались препараты, образующие фибрин.

Список литературы

1. Применение биологического клея «Биоклей-ЛАБ» для профилактики несостоятельности анастомозов на органах желудочно-кишечного тракта / М. Д. Дибиров, Б. С. Брискин, В. С. Акопян [и др.] // Анналы хирургии. — 2008. — № 2. — С. 31–34.
2. Марченко В. Т. Изучение свойств биологического клея «Сульфакрилат» на кишечную стенку в эксперименте / В. Т. Марченко, Н. Ю. Изупова, А. В. Марченко // Материалы XII науч.-практич. конф. «Актуальные вопросы современной медицины». — Новосибирск, 2002. — С. 112.
3. Оценка способов профилактики третичного перитонита путем оментизации и экстраперитонизации стенки тонкой кишки со швами при фибринозно-гнойном перитоните в эксперименте / Д. В. Морозов, В. В. Атаманов, К. В. Атаманов [и др.] // Сиб. мед. обозрение. — Новосибирск. — 2011. — № 1. — С. 89–91.
4. Прудков М. И. Хирургическое лечение распространенного перитонита / М. И. Прудков, О. В. Киршина, А. В. Токарев // Материалы 11 съезда хирургов Российской Федерации. — Волгоград, 2011. — С. 548.
5. Хайдарова Д. К. Обоснование выбора метода укрепления межкишечных анастомозов аллотрансплантатами, консервированными в смеси альдегидов и флавоноидов : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Д. К. Хайдарова. — Душанбе, 2000. — 158 с.
6. Черноусов А. Ф. Опыт применения фибринового клея для лечения несформированных свищей желудочно-кишечного тракта / А. Ф. Черноусов, Т. В. Хоробрых, О. В. Ищенко // Хирургия. — 2006. — № 9. — С. 21–24.
7. Шуркалин Б. К. Проблема надежности кишечного шва / Б. К. Шуркалин, В. А. Горский, И. В. Леоненко //Consilium medicum. — 2004. — Т. 6, № 6. — С. 17–25.
8. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses / R. Golub, R. W. Golub, R. Jr. Cantu, H. D. Stein // J. Am. Coll. Surg. — 1997. — Vol. 184, N 4. — P. 364–372.

Синдром Виллебранда. Клинический случай без снижения отношения VWF:AG/VWF:RCO у пациентки с хроническим миелолейкозом

А. Н. Мамаев[1], О. В. Ефремова[1], А. П. Момот[2], Г. И. Костюченко[1], Е. В. Григорьева[1], Л. П. Цывкина[3], Д. В. Белозёров[1], Ю. В. Яковенко[1], М. В. Косинова[4]

[1] - КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая больница», г. Барнаул

[2] -Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул

[3] - ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Барнаул;

[4] - ГУЗ «Областная клиническая больница», г. Кемерово

Синдром Виллебранда (СВ) — это редкий геморрагический диатез, возникающий на фоне онкологических, иммунных, иных заболеваний или спонтанно, характеризующийся дисфункцией и/или снижением концентрации фактора Виллебранда [Ю. Н. Андреев и соавт., 2005; A. L. Bloom, 1980; A. Veyradier et al., 2000; A. B. Federici et al., 2001, 2004]. Нередко этот синдром называют «приобретённая болезнь Виллебранда» [L. Holland et al., 1980; S. Kumar et al., 2002; Mohri, 2003; K. Yoshida et al., 2006], поскольку, в отличие от болезни Виллебранда, геморрагический синдром при этой дисфункции системы гемостаза выявляется уже после обнаружения клинических проявлений фонового заболевания. Эта патология впервые была описана в 1968 году на фоне системной красной волчанки [J. V. Simone et al., 1968]. Поскольку иммунные, онкологические, онкогематологические заболевания чаще наблюдаются у взрослых, диагностируют СВ преимущественно уже в зрелом возрасте, хотя описаны случаи выявления этого нарушения системы гемостаза и у детей. У таких больных возникают различные кровотечения (чаще умеренные) на фоне основного (фонового) заболевания. В подавляющем большинстве клинических ситуаций наследственность по геморрагическим проявлениям у таких пациентов не отягощена.

В таблице 1 представлены основные заболевания и патологические состояния, патогенетически связанные с СВ.

Генез СВ окончательно не расшифрован, однако можно не без оснований назвать его мультифакториальным. В большинстве случаев при этой патологии синтез фактора Виллебранда эндотелиальными клетками и мегакариоцитами не нарушен, но наблюдается укорочение продолжительности циркуляции в кровотоке его мультимеров. Однако в ряде ситуаций, например, при гипотиреозе, происходит нарушение синтеза фактора

Таблица 1.

Заболевания, при которых обнаруживается синдром Виллебранда

Патогенетические группы	Заболевания
Иммунные заболевания	СКВ, склеродермия
Онкологические заболевания	Нефробластома, аденокарцинома, канцероматоз
Гематологические заболевания	Моноклональная гаммапатия, миелолейкоз, лимфолейкоз, лимфомы, макроглобулинемия Вандельстрема, миеломная болезнь, эсенциальная тромбоцитемия, полицитемия, талас- семия, приобретенная гемофилия
Дисплазии соединительной ткани	Синдром Элерса-Данло, желудочно-кишечная ангиодисплазия
Медикаменты	Антибиотики (гризеофульфин, ципрофлоксацин), противо- судорожные препараты, концентраты коагуляционного фактора VIII
Другие	Инфекционные заболевания вирусной и бактериальной этиологии, пороки сердечных клапанов, гипотиреоз

Виллебранда, поэтому при этом заболевании наблюдается закономерное снижение активности и уровня этого протеина [M. Franchini et al., 2005].

Патогенетические механизмы, лежащие в основе СВ, можно условно разделить на ингибирование, протеолиз, недостаточный синтез, связывание мультимеров клетками. Циркуляция аутоантител к фактору Виллебранда обу славливает его ингибирование или увеличение скорости элиминации при миеломной болезни, СКВ и ряде других нарушений [E. G. Bovill et al., 1986; H. Mohri et al.,1987; C. Richard et al., 1990; A. B. Federici et al., 2001]. Их наличие обуславливает образование иммунных комплексов, которые быстро элиминируются из организма ретикуло-эндотелиальной системой. Связывание рецепторами активированных тромбоцитов (GPIb-IX-V или GPIIb-IIIa) крупных мультимеров описано при эссенциальной тромбоцитемии [U. Budde, P. J. van Genderen, 1997; P. J. van Genderen et al., 1997]. Подобное же связывание с разобщением комплекса VIII:C-vWF возникает при онкологических заболеваниях и лейкозах (карциномы, лимфомы и др.). Еще один механизм — это протеолиз при миелопролиферативных заболеваниях плазмином, ADAMTS-13 или другими субстанциями [P. Baud et al., 2003].

Диагностика синдрома Виллебранда основана на обнаружении симптомов, маркирующих приобретённое геморрагическое заболевание, а также выявлении некоторых, характерных для болезни Виллебранда, лабораторных проявлений. Поэтому у больных с СВ могут быть в комбинации нарушены следующие тесты:

- снижение активности фактора Виллебранда,
- снижение уровня антигена фактора Виллебранда,
- удлинённое время кровотечения,
- пролонгация АПТВ/АЧТВ,
- удлинение времени закрытия апертуры картриджа (closure time) по данным PFA-100,
- снижение уровня коагуляционного фактора VIII.

Лечение должно быть направлено на терапию основного заболевания, а также на устранение и профилактику геморрагий [H. Takahashi et al., 1986; P. W. Friederich et al., 2001; M. Franchini et al., 2002; Maddox JM et al., 2005;]. Прогноз в большинстве случаев зависит от особенностей течения основного заболевания.

Клиническое наблюдение

Пациентка Щ., возраст 57 лет, состоит на диспансерном учете по поводу хронического миелолейкоза (ХМЛ) в течение 10 лет. В дебюте заболевания Филадельфийская хромосома 100%, промежуточная группа риска по Сокал. Вначале пациентке проводилась первично сдерживающая терапия гидроксикарбамидом, затем интерферонотерапия 5-6 млн ЕД подкожно ежедневно в сочетании с малыми дозами Цитозара, гидроксикарбамидом, однако гематологическая ремиссия не была получена. С марта 2005 года принимает Гливек с 400 мг в сутки. В дальнейшем, учитывая отсутствие цитогенетического ответа, доза Гливека была увеличена последовательно до 600 мг, а затем и до 800 мг в сутки. В связи с гематологической токсичностью 3-й степени на фоне применения 800 мг этого препарата, его доза была снижена до 600 мг в сутки. На момент осмотра цитогенетическая ремиссия отсутствует, Bcr-abl 4,03% от 23.09.2011.

В течение 1,5 лет у пациентки наблюдаются рецидивирующие кровоизлияния в склеру правого века, эпизоды мелкоточечной геморрагической сыпи на коже, кровотечение после удаления зуба до 6 часов, кровотечение после эндопротезирования левого тазобедренного сустава, потребовавшее трансфузии свежезамороженной плазмы. Несмотря на продолжительный анамнез ХМЛ и неоднократные эпизоды снижения тромбоцитов до 42 х 10^9/л, ранее не наблюдалось геморрагического синдрома. Наследственность по геморрагическим заболеваниям не отягощена.

Результаты исследования периферической крови, биохимическое исследование и показатели системы гемостаза на момент наличия геморрагического синдрома у больной Щ. представлены в таблицах 2-4. В общем анализе мочи обнаружен белок до 0,36‰, единичные эритроциты.

Показатели периферической крови у больной с синдромом Виллебранда. Таблица 2.

Показатели	Больная Щ.
RBC, × 10^{12}/л	2,9
HB, г/л	96
HCT, %	30,6
MCV, фл	105
MCH, пг	32,9
MCHC, г/л	32,4
PLT, × 10^{9}/л	50
MPV, фл	8,5
WBC × 10^{6}/л	1,6
Эозинофилы, %	2
Базофилы, %	0
Палочкоядерные, %	1
Сегментоядерные, %	44
Лимфоциты, %	50
Моноциты, %	3

Таблица 3.

Биохимические показатели у больной с синдромом Виллебранда.

Показатели	Больная Щ.
АЛТ, ед./л	18,3
АСТ, ед./л	22,7
Общий билирубин, мкмоль/л	13,4
Непрямой билирубин, мк моль/л,	10,6
Мочевина, ммоль/л.	5,86
Креатинин, мкмоль/л.	70,5
Щелочная фосфотаза, ед./л	140,7
Общий белок, г/л	63,8
ГГТП, ед	20,7

Таблица 4.

Результаты исследования системы гемостаза у больной Щ. с синдромом Виллебранда на фоне хронического миелолейкоза.

Методы исследования	Больная	Контроль
АПТВ, с	36	29
Протромбиновое время, с	14	14
МНО	1,0	-
Тромбиновое время, с	20	19
Анцистроновое время, с	23	21
Батроксобиновое время, с	25	24
Фибриноген, г/л	3,7	2,0-4,0
D-димер, нг/мл	250	<300
Р Ф М К, мг%	3,5	до 3,5
XIIa зависимый фибринолиз, мин	10	до 10
Антитромбин III, %	98	75-125
Плазминоген, %	85	75-125
Волчаночный антикоагулянт	Отр.	Отр.
Протеин С, %	90	70-130
Активность коагуляционного фактора VIII, %	40	50-150
Активность коагуляционного фактора IX, %	75	50-150
Агрегация тромбоцитов на агрегометре:		
- АДФ, в дозе 5×10^{-5} М, %	мало PLT	70-80
- АДФ, в дозе 2×10^{-5} М, %	мало PLT	-
- ристомицин (0,17 мкг/мл), %	мало PLT	80-90
- адреналин (5 мкг/мл), %	мало PLT	70-80
- коллаген, %	мало PLT	70-80
Фактор Виллебранда (VWF:Ag), %	45	50-150
Фактор Виллебранда (VWF:RCo), %	50	60-150
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	50	170-380
Ratio VWF:Ag/ VWF:RCo	0,9	Более 0,7

Биохимический анализ крови на момент наличия геморрагического синдрома представлен в тяблице 3.

Как следует из представленного клинического примера, мы обнаружили пациентку с синдромом Виллебранда на фоне хронического миелолейкоза. Как было сказано выше, у таких больных на фоне онкогематологических заболеваний наблюдается нарушение ристомицин-кофакторной активности фактора Виллебранда, однако уровень антигена бывает сохранён. Особенностью клинического наблюдения является то, что у больной было сочетанное снижение уровня антигена фактора Виллебранда и его ристомицин-кофакторной активности.

Опыт применения концентрата фактора Виллебранда «Вилате» у пациентки с тяжелой формой болезни Виллебранда (субтип 2N)

А. Н. Мамаев[1,2], А. П. Момот[1], В. А. Елыкомов[3], Л. И. Морозова[4], Е. В. Григорьева[2], О. В. Ефремова[2], И. Е. Бабушкин[3]

[1] **- Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России**

[2] **- КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая больница», г.Барнаул;**

[3] **- ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Барнаул**

[4] **- МУЗ «Городская больница 11», г.Барнаул**

Болезнь Виллебранда (БВ) является наи- более частым наследственным геморрагическим заболеванием, в основе которого многочислен- ные генетические нарушения синтеза протеина (фактора Виллебранда), способствующего тром- боцитарной адгезии [1, 2, 6]. БВ распространена повсеместно и встречается в клинической практике врачей самых разных специальностей. Тяжелые формы БВ ведут к частым анемизиру- ющим кровотечениям, но особенно опасна эта кровоточивость при хирургических вмешатель- ствах, родах и др. травматических воздействиях. В настоящее время принята следующая классификация БВ [2-4] (табл. 1).

Типы и субтипы болезни Виллебранда

Таблица 1.

Тип/подтип БВ	Фактор Виллебранда/Характер нарушений
1	Количественный дефект
2	Качественный дефект
2A	Отсутствие больших мультимеров
2B	Повышенная аффинность к ГП 1b
2N	Сниженная аффинность к фактору VIII
2M	Сниженная аффинность к ГП 1b тромбоцитов без нарушения мультимерной структуры
3	Полное отсутствие фактора Виллебранда

Эффективным методом лечения некоторых типов болезни Виллебранда является внутривенное, подкожное или интраназальное введение синтетического производного гормона вазопрессина — десмопрессина (аналоги: Адиуретин-SD, Эмосинт, Минерин и др.), позволяющего мобилизовать в плазму крови депонированный эндотелиоцитами ФВ [2,5,6].

Вместе с тем, при ряде вариантов БВ (частично 1 тип, типы 2N и 3) такой маневр малоэффективен и требуется применение других средств, которые можно разделить на две большие группы:

1. Локального действия:

- синтетические ингибиторы фибринолиза (э-аминокапроновая кислота - э-АКК и препараты на ее основе — капрофер и др.; транексамовая кислота) при орошениях мест кровотечений;
- фибриновый клей (Tissucol Kit — двухкомпонентный фибриновый клей на основе фибриногена, тромбина, фактора XIII и апро- тинина; Tachocomb — пластины различного размера с комбинацией коллагена с фибриногеном и тромбином;
- пластины или губки на основе коллагена — Tachotop, Гемасепт, губка гемостатическая коллагеновая.

2. Общего действия:

- концентраты фактора VIII, содержащие ФВ;
- синтетические ингибиторы фибринолиза (э-АКК, транексамовая кислота) при назначении внутрь или парентерально;
- концентрат тромбоцитов;
- рекомбинантный фактор VIIa.

Нами был успешно использован новый концентрат фактора Виллебранда «Вилате» при родах у пациентки с тяжелым течением БВ. Больная А.Т.А. (1981 г.р.), состоит на диспансерном учете в центр по диагностике и лечению нарушений гемостаза с БВ. В течение продолжительного времени у пациентки имеются жалобы на выраженный геморрагический синдром (анеми- зирующие маточные и носовые кровотечения, гематомы, гемартрозы и др.), имеются признаки сидеропении. Геморрагические нарушения наблюдаются с раннего детского возраста, но особенно тяжелым течение заболевания стало после становления менструального цикла. Наследственность без особенностей.

В 2008 году пациентка забеременела и к концу периода гестации стал актуален вопрос о фармакологической профилактике массивного кровотечения при плановом родоразрешении. Во время дородовой госпитализации у пациентки было выполнено исследование системы гемостаза (табл.2).

Как следует из представленной таблицы, было обнаружено значительное нарушение внутреннего механизма коагуляции за счёт глубокого снижения уровня коагуляционного фактора VIII, а также снижение ристомицин- кофакторной активности фактора Виллебранда. На основании представленных клинических и лабораторных данных, у пациентки был диагностирован вариант 2N болезни Виллебранда. Учитывая то, что кровоточивость при этом субтипе не устраняется производными десмо- прессина, в комплекс лечебных профилактических мероприятий для осуществления родов у

Таблица 2.

Показатели системы гемостаза у больной А.Т.А. при сроке беременности 38 недель.

Показатели системы гемостаза	Больная А.Т.А.	Диапазон нормальных значений
АПТВ/АЧТВ, с	73	30-40
Протромбиновое время, с	15	15-18
Тромбиновое время, с	15	14-18
Анцистроновое время, с	28	25-35
Фибриноген, г/л	4,1	2,0-4,0
Антитромбин-III, %	90	75-130
Протеин С, %	85	70-130

Показатели системы гемостаза	Больная А.Т.А.	Диапазон нормальных значений
Активность коагуляционного фактора VIII, %	1-2	50-150
Активность коагуляционного фактора IX, %	100	50-150
Фактор Виллебранда (VWF:Ag), %	114	50-160
Фактор Виллебранда (VWF:RCo), %	12	70-130
Агрегация с АДФ, %	70	50-70
Агрегация с адреналином, %	22	50-70
Агрегация с коллагеном, %	55	50-70
Агрегация с ристоцетином (RIPA), %	83	70-100
Тромбоциты, $x10^9$	253	150-380

пациентки был добавлен концентрат фактора Виллебранда «Вилате» в дозе 38,6 МЕ/кг. Роды у больной с тяжелым течением врождённого геморрагического заболевания прошли без значимой кровопотери (кровопотеря составила 400 мл). В послеродовом периоде больной в течение 3-х дней применяли препарат «Вилате», каких- либо геморрагий не было. Однако после отмены концентрата появились мажущие кровянистые выделения из половых путей, также были обнаружены спонтанные гематомы на голенях.

Таким образом, применение современного концентрата «Вилате» позволяет осуществить профилактику геморрагических осложнений при родах у больных с тяжелым течением БВ.

Учитывая, что лечащему врачу нередко приходится выбирать между пользой и риском тромботических осложнений при применении тех или иных гемостатических средств, считаем необходимым отметить, что использование «Ви- лате», представляющего собой сбалансированное (около 1:1) соотношение плазменного фактора VIII и ФВ, связано с низкой вероятностью избыточного накопления фактора VIII и создания тромбогенного состояния [6].

Представленный случай, а также 10 эпизодов аналогичной тактики, примененной в нашем центре при различных типах БВ, сопутствующей малым хирургическим вмешательствам (дентектомия, ЛОР-вмешательства и др.) свидетельствуют перспективности использования данного препарата для профилактики массивной кровопотери при этом распространенном виде геморрагического диатеза.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы., М., Медицина, 1988. - 528 с.

2. Баркаган З.С. Руководство по гематологии: в 3 т. Т. 3. Под ред. А.И.Воробьева. 3-е изд. , М.: Нью- диамед; 2005. - 416 с.

3. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний /Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П.Папаян. С.-Петербург, 1999. - 121 с.

4. Папаян Л.П., Головина О.Г. Вариантные формы болезни Виллебранда. //Терапевтический архив, 1990. - Т. 62. - № 7. - С. 86-92.

5. Румянцев А.Г. Современная терапия болезни Виллебранда (лекция) // Вопросы гематологии/ онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2005, т.
4. - № 2. - С. 12-15.

6. Mannucci P. Treatment of von Willebrands disease. // N. Engl. J. Med., 2004. - V. 351. - P 683-694.

Современные представления о структуре и функции фактора XIII

А.П. Момот, Н. В. Сидор

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

Фактор XIII (фактор Лаки-Лоранда, фибринстабилизирующий фактор, трансглутаминаза) представляет собой фермент, который на конечном этапе свертывания крови стабилизирует фибрин, в результате чего последний приобретает прочность и стойкость к действию фибринолитических агентов.

1. Структура, свойства и механизм действия фактора XIII

Фибринстабилизирующий фактор был открыт позднее всех других факторов гемокоагуляционного каскада. В 1963 году Международный комитет по факторам свертывания признал этот фермент в качестве фактора свертывания крови и обозначил его как фактор XIII [1].

Клиническая значимость фибринстабилизирующего фактора стала очевидна в 1960 году, когда Duckert описал первый случай дефицита этого фактора у двух братьев, Пауля Ж. и Франца Ж., родители которых находились в близком родстве. Геморрагический диатез проявлялся длительными кровотечениями при порезах и ссадинах, после удаления зубов, рецидивирующими гематомами в местах ушибов, медленным заживлением ран с образованием обширных рубцов, субдуральными рецидивирующими гематомами. У Пауля Ж. на второй неделе периода новорожденности возникло кровотечение из пуповины, потребовавшее хирургического гемостаза [2]. Вместе с тем первые наблюдения, предполагающие поперечное связывание фибрина, были опубликованы еще в 1923 году, когда G. Barkan и A. Gaspar показали, что фибриновый сгусток, сформированный в присутствие ионов кальция, становится нерастворимым в слабых основаниях, в том числе в мочевине (3). Двадцать лет спустя К. С. Robbins подтвердил этот эксперимент с очищенным препаратом фибриногена и предположил существование «сывороточного фактора», увеличивающего прочность сгустка фибрина [4]. В дальнейшем К. Laki и L. Lorand определили, что этот фактор по своей природе является белком, и назвали его «фибринстабилизирующий фактор» [5-7]. В 1957-1961 гг. A.G. Loewy et al. получили данный белок в очищенном виде и охарактеризовали его ферментативную природу [8-12]. В последующие годы появилось много публикаций, посвященных как расшифровке структуры фактора XIII, так и изучению его роли в патологии человека.

1.1.Строение фактора XIII и его распределение на клеточном и тканевом уровнях

Согласно современным пердставлениям фактор XIII является уникальным проферментом системы свертывания крови — амино-γ-глутамилтранферазой, относящейся к семейству тиоловых тканевых трансглутаминаз (КФ 2.3.2.13), действие которой направлено на образование γ-глутамил-ε-лизиновых изопептидных связей [13, 14].

Выделяют *плазменную* и *внутриклеточную* форму фактора XIII.

Плазменный фактор XIII циркулирует в крови в виде профермента как гетеротетрамер (A_2B_2) с молекулярной массой 340 кДа [14, 15]. Он состоит из двух субъединиц А (Mm≈75 кДа), которые обладают ферментативной активностью, и двух субъединиц В (М m≈80 кДа). Последние защищают субъединицу А от протеолитической деградации и препятствуют ее медленной спонтанной активации [16, 17]. Связь четырех субъединиц фактора XIII осуществляется ионным взаимодействием [18]. В плазме субъединица А всегда находится в комплексе с субъединицей В, в то время как последняя присутствует в избытке и примерно половина ее количества циркулирует в крови в свободном виде [19, 20]. Практически все молекулы фактора XIII в плазме крови нековалентно связаны с молекулой фибриногена [20-23].

Внутриклеточная форма фактора XIII (XIII-A_2) представлена двумя ферментативно активными субъединицами А [24-26]. Она обнаружена во многих клетках, в том числе в цитоплазме тромбоцитов [24-26], мегакариоцитов [27, 28], моноцитов и их костномозговых предшественников [28-30], макрофагов [30], гистиоцитов [31], дендроцитов [32] и хондроцитов [33]. На основании ПЦР-анализа фактор XIII-A_2 был идентифицирован в большинстве органов и тканей: в печени, почках, легких, скелетных мышцах, сердце, плаценте, матке, предстательной железе, в соединительной ткани [34-38].

В крови общее количество фактора XIII распределено примерно поровну между плазмой и тромбоцитами [39, 40]. Однако, учитывая то, что объем всего пула тромбоцитов во много раз меньше общего объема плазмы, в тромбоцитах концентрация фактора XIII примерно в 100-150 раз выше [24-26]. Большая часть тромбоцитарного фактора XIII локализуется в цитоплазме кровяных пластинок, и совсем небольшое его количество (около 5%) связано с мембраной [40, 41]. Кроме того, в α-гранулах тромбоцитов была обнаружена плазменная форма фактора XIII-A_2B_2. Однако ее количество незначительно (1-2%) по сравнению с цитоплазматическим (внутриклеточным) фактором XIII-A_2 [42].

Синтез фактора XIII

Рядом исследователей при помощи современных методов молекулярной диагностики было выявлено, что местом синтеза фактора XIII-A_2 являются мегакариоциты [27, 28], моноциты/макрофаги и их костномозговые предшественники [29, 43, 44].

Гены, кодирующие образование субъединицы А и субъединицы В фактора XIII, расположены в разных хромосомах. Ген субъединицы А картирован на хромосоме 6p24-25 [45], а ген субъединицы В — на хромосоме 1q31-32.1 [46]. Согласно проведенным исследованиям по пересадке печени и костного мозга и другим иммуногистиохимическим исследованиям, основным источником субъединицы А плазменного фактора XIII является популяция или популяции клеток красного костного мозга [34, 47-49]. Вклад печени в данном случае является несущественным, но она является основным местом синтеза субъединицы В [37, 50]. Высвобождение субъединицы В происходит классическим секреторным способом, в то время как субъединица А высвобождается только при разрушении клетки [51]. По предположению авторов, субъединица А высвобождается из гематопоэтической ткани при деструкции клеток и уже в циркуляторном русле происходит ее объединение с субъединицей В.

1.2. Активация, механизм действия и ингибирование активности фактора XIII. Субстраты фактора XIII

Активация фактора XIII

В плазме фактор XIII находится в неактивной форме, как профермент. Физиологическим активатором плазменного фактора XIII (XIII- A_2B_2) является тромбин (фактор IIa). Последний гидролизует пептидную связь в цепи А, в результате чего от N-концевой части молекулы фактора XIII происходит отделение так называемого активационного пептида (АП), состоящего из 37 аминокислот [52, 53], с образованием субъединицы А', не обладающей пока еще ферментативной активностью (рис. 1).

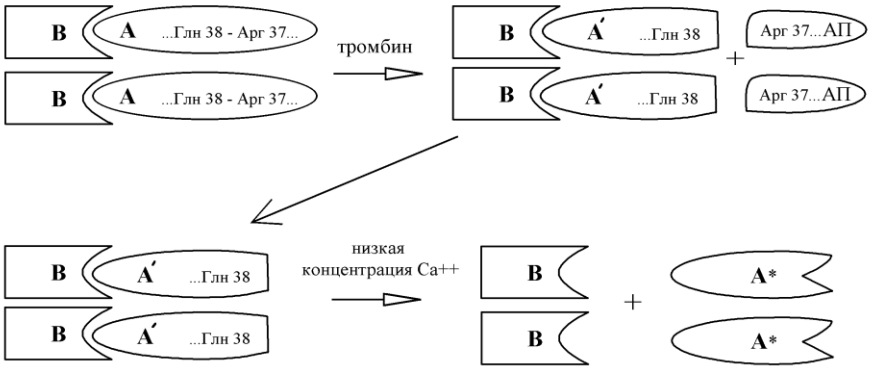


Рис. 1. Тромбин-зависимый (протеолитический) механизм активации плазменного пула фактора XIII.
Примечание: *А - неактивированная субъединица А фактора XIII; В-субъединица В фактора XIII; АП – активационный пептид; А′ – субъединица А после отделения тромбином Ап, не обладающая ферментативной активностью; А* - протеолитически активированная форма субъединицы А фактора XIII.*

С помощью радиоструктурного анализа было показано, что после разрушения связи АП все еще остается в первоначальном положении, закрывая активный центр (АЦ), и вся молекула в целом не претерпевает никаких конформационных изменений по сравнению с профферментом [54]. В дальнейшем в присутствии низких концентраций ионов кальция происходит отделение субъединиц В и кальций-зависимое конформационное превращение молекулы [55, 56], в результате чего активный центр фермента становится доступным для взаимодействия с субстратами (рис. 1).

Ключевым регулятором активации плазменного фактора XIII является фибриноген. В отсутствии фибриногена потребность в ионах Ca^{++} становится больше и превышает его физиологическую концентрацию в плазме. Известно, что наличие фибриногена ускоряет протеолитическое отделение АП практически в 100 раз [57-59].

Однако более эффективным ускорителем является фибринполимер [60]. В то же время мономер фибрина не оказывает никакого эффекта на протеолитическую ступень активации, но он способствует диссоциации В-субъединиц от тромбин-активированного тетрамера ($A_2'B_2$) даже в отсутствие ионов Са++ [59, 60].

В условиях in vitro возможна также активация фактора XIII без участия тромбина при концентрации ионов Ca^{++}, превышающей 50 мМ [61-63]. Тетрамер фактора XIII спонтанно диссоциирует и A_2-димер превращается в активную трансглутаминазу — $A_2°$, что показано на рис. 2. Она также способна связывать фибрин, но менее

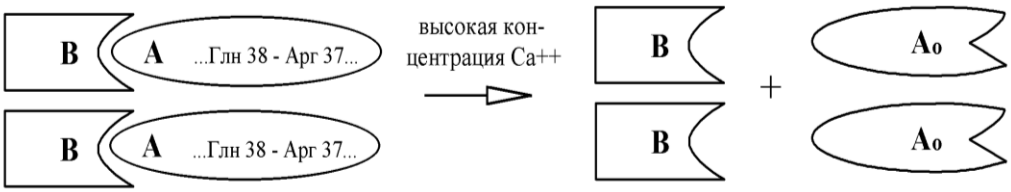


Рис. 2. Тромбин-независимый (непротеолитический) механизм активации плазменного пула фактора XIII.
Примечание: *A_0 – непротеолитически активированная субъединица А*

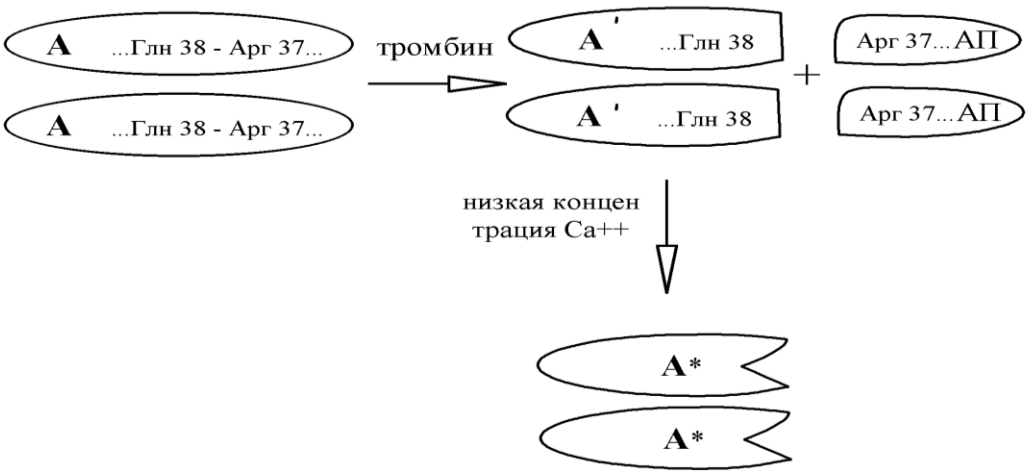


Рис. 3. Протеолитический механизм активации внутриклеточного фактора XIII.
Примечание: *обозначения те же, что и в рис. 2*

эффективно в сравнении с протеолитически активированной формой фермента - A_2* [56].

Содержащийся внутри клеток фактор XIII in vitro активируется как и плазменный аналог, с помощью тромбина и ионов Ca^{++} (рис. 3). Хотя диссоциация В-субъединиц в данном случае не нужна, ионы Ca^{++} все же необходимы для кон- формационных изменений молекулы, обеспечивая ее трансглутаминазную активность [17].

Непротеолитический механизм активации внутриклеточного фактора XIII-A^ происходит так же, как и плазменного фактора XIII-A^ [17]. В данном случае такая активация возможна и при низкой (физиологической) концентрации кальция (рис. 4), однако при нарастании ионной силы среды скорость реакции возрастает [64]. Поскольку тромбин не способен проходить через клеточную мембрану, высказано предположение, что при активации тромбоцитов увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{++} инициирует медленно прогрессирующий механизм активации фактора XIII-A_2 [17, 65].



Рис. 4. Варианты непротеолитического механизма активации внутриклеточного фактора XIII
Примечание: *обозначения те же, что и в рис. 2*

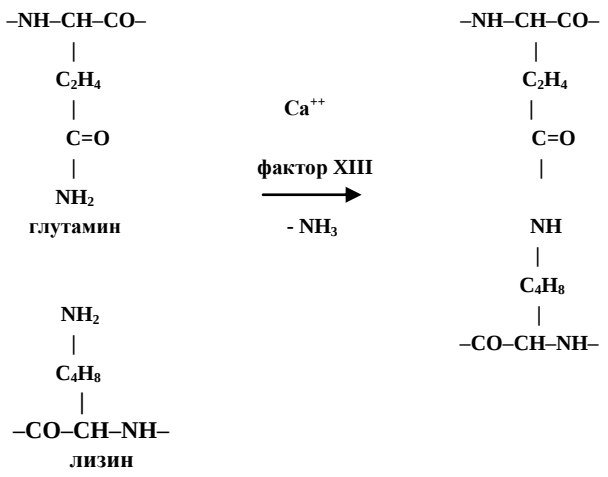


Рис. 5. Образование межмолекулярных γ-глутамил-ε- лизиловых изопептидных связей с помощью фактора XIIIa при стабилизации фибрина [14].

Механизм действия фактора XIIIa

Фактор XIII образует изопептидную связь между боковыми радикалами глутамина и лизина полипептидных цепей. Движущей силой этого процесса является отделение аминогруппы от глутамина и присоединение на это место аминогруппы лизина (рис. 5).

Фактор XIII высоко специфичен по отношению к глутамину, в то время как специфичность к аминосубстрату является более свободной. В эту реакцию могут вступать как амины с маленькой молекулярной массой, так и лизиновые окончания крупномолекулярного белка, образуя γ-глутамил-ε-лизин-изопептидную связь, которая соединяет полипептидные цепи [13, 14, 66].

Нарушение активации и ингибирование фактора XIIIa

Существует мало информации об инактивации фактора XIIIa и о его физиологических специфических ингибиторах. Известно, что когда степень поперечного связывания гамма-цепей мономера фибрина превышает 40%, способствующий активации фактора XIII эффект фибринполимера снижается [59]. Другой механизм нарушения активации фактора XIIIa осуществляется через тромбомодулин на сосудистой стенке. Тромбин, образуя комплекс с тромбомодулином, слабее активирует фактор XIII [67]. Допускается также протеолитическая деградация фактора XIIIa тромбином в высокой концентрации при длительной инкубации смеси [16, 55].

Молекула NO ингибирует активность фактора XIII, реагируя с тиоловыми группами активного центра фермента [68]. Кроме того, было обнаружено, что яд змеи Lonomia achelous caterpillars избирательно разрушает обе субъединицы фактора XIII, приводя к развитию выраженного геморрагического синдрома [69, 70].

Субстраты фактора XIIIa

К числу основных субстратов фактора XIIIa относят *молекулы* фибриногена, олигомеров и полимеров *фибрина* [71-82], а также *a_2-антиплазмин* [83-89]. Фибрин считается главным физиологическим субстратом фактора XIIIa. Последний катализирует димеризацию γ-цепей и полимеризацию α-цепей, в то время как β-цепи фибрина не вступают в эту реакцию [77, 78, 90, 91]. Фибриноген также может связываться фактором XIIIa, но гораздо медленнее, и при этом образуется менее устойчивая структура [72-76]. Один из основных ингибиторов плазмина, a_2-антиплазмин [86], также является донором глутамина для фактора XIII, вследствие чего он может присоединяться к α-цепи фибрина [83, 85] и фибриногена [84]. Такое связывание происходит достаточно быстро, считается, что быстрее чем полимеризация α-цепей [88]. Однако в реакцию вступает только 30% a_2-антиплазмина, что связывают с полиморфизмом данного белка [84, 89].

Также известно, что фактор XIII индуцирует образование промежуточных полимеров *фактора V,* у которого имеются как глутаминовые, так и лизиновые остатки [92-94]. К субстратам фактора XIIIa относят *ингибитор активатора плазминогена-2* (PAI-2) [95], *плазминоген* [96, 97], *белковый компонент атерогенных липопротеинов,* структура которого схожа с таковой у плазминогена [98, 99]. Потенциальными субстратами фактора XIII являются также адгезивные белки: *фактор Виллебранда* [100, 101], *фибронектин* [102-109], *витронектин* [110, 111], *тромбоспондин* [112-114]. Мономеры фактора Виллебранда могут ковалентно связываться между собой фактором XIIIa, образуя большие полимерные комплексы [101], кроме того, фактор XIII может катализировать присоединение фактора Виллебранда к фибрину [101] и мономерам коллагена [100]. Фибронектин, высокомолекулярный плазменный гликопротеин и структурный компонент соединительной ткани, также присоединяется к фибрину под действием фактора XIIIa [115]. Этот процесс протекает более активно после того, как сформируются высокомолекулярные полимеры α-цепей фибрина [116]. Имеются описания поперечного связывания фибронектина к коллагену [106] и

к наружному клеточному матриксу [107, 108].

Интересно то, что большинство компонентов цитоскелета были идентифицированы как субстраты внутриклеточного фактора XIII [117]. К их числу относят актин [118], миозин [119], винкулин [120, 121], филамин [117].

1.3. Роль фактора XIII в свертывании крови

Гемостатическая функция фактора XIII в современной литературе объясняется двумя свойствами: 1) способностью стабилизировать фибриновый сгусток [72, 73, 76, 81]; 2) способностью препятствовать истечению крови за пределы сосудистой стенки за счет участия в упрочнении межклеточного взаимодействия эндотелиального слоя [123-126].

Циркулирующий в крови плазменный фактор XIII стабилизирует фибрин, который становится более резистентным к действию фибринолитических агентов и нерастворимым в 5М-мочевине [127-132]. Исследования Jansen et al. показали, что tPA-индуцированный фибринолиз сгустка происходит быстрее в случае ингибирования фактора XIIIa специфическими антителами [133]. Зависимость эффективности лизиса фибрина от уровня фактора XIII была подтверждена и другими авторами [134-136].

Важно отметить, что фактор XIII начинает стабилизацию фибрина еще до его выпадения в виде сгустка, т.е. в плазме при активации свертывания циркулируют поперечно сшитые растворимые олигомеры фибрина [82, 137-139]. Первоначально под действием фактора XIII происходит образование поперечных связей между α-цепями мономеров фибрина (D-D-димеризация). Этот процесс происходит достаточно быстро и обеспечивает первичную прочность сгустка [79-82, 140, 141]. В дальнейшем эта прочность возрастает по мере формирования связей между α-цепями молекул фибрина — α-полимеризация [77, 78, 128, 142, 143]. Показано, что ковалентное присоединение фибронектина к фибрину влияет на эластичность сгустка [85, 116, 144, 145], увеличивает размер фибриновых волокон и их плотность [131].

Вместе с тем проведенные исследования показывают, что прочность сгустка зависит не только от количества поперечных связей в фибрине, но и от наличия в его составе других компонентов плазмы, являющихся субстратами для фактора XIIIa [146]. Для обеспечения прочности сгустка наиболее важными из них являются a_2- антиплазмин и активированный тромбином ингибитор фибринолиза — TAFI [83-88, 147, 148]. Jansen и др. показали в своей работе, что поперечное связывание α2-антиплазмина к α-цепям фибрина под действием фактора XIIIa является ключевым моментом, влияющим на эффективность фибринолиза [133]. При этом вначале происходит образование комплексов, состоящих из фибринмономера и α2-антиплазмина, а затем эти гетеродимеры встраиваются в высокомолекулярные α-полимеры фибрина [85, 87, 89]. Исходя из этих данных возникла новая гипотеза: ранняя защита сгустка от действия плазмина обеспечивается поперечным связыванием α_2-антиплазмина к фибрину [149]. Параллельно протекающий, но более медленный процесс полимеризации α-цепей молекул фибринмономера отвечает за резистентность к тромболизису более старого тромба [142, 143, 149, 150]. Проявления недостаточности α_2-антиплазмина клинически схожи с дефицитом фактора XIII [14, 88].

Второй аспект гемостатической функции фактора XIII связан с его важной ролью в упрочнении межклеточного пространства эндотелия сосудов, а также участие в обеспечении клеточной адгезии и миграции. Так, при местном лечении трофических язв на ногах препаратом фактора XIII замечено снижение эндотелиальной проницаемости сосудов [151]. Фактор XIII уменьшал проницаемость эндотелия при экспериментальном повреждении внутренней выстилки сосудов с помощью антиэндотелиальных антител [123]. Замечено, что при наличии поврежденного эндотелия системное назначение концентрата фактора XIII приводит к восстановлению эндотелия и снижению исходно повышенного уровня фактора Виллебранда, который является маркером эндотелиоза [124]. Недавно были выполнены исследования, направленные на изучение противоотечного действия фактора XIII и его влияние на сосудистую проницаемость для альбумина [125, 126]. Оказалось, что субъединица А фактора XIII как снижала белковую проницаемость эндотелиального монослоя, так и препятствовала отеку миокарда при ишемии, обусловленной тромбозом коронарных артерий. Таким образом, эти данные характеризуют ранее мало изученную роль фактора XIII — способность поддерживать барьерную функцию эндотелия.

Роль внутриклеточной формы фактора XIII изучена недостаточно. Имеются сообщения, что внутриклеточный фактор XIII активируется в цитоплазме тромбоцитов, формируя поперечные связи между белками цитоскелета [64, 65, 117, 120, 121]. Значительное количество этих белковых полимеров образуется в ту фазу активации тромбоцитов, когда процесс секреции и агрегации тромбоцитов снижается, т. е. во время ретракции сгустка [152, 153, 154].

1.4. Участие тромбоцитов в стабилизации фибрина

Интересной, но все еще мало изученной остается роль тромбоцитов в стабилизации фибрина. Прежде всего это связано с тем, что в самих тромбоцитах заключено большое количество (около 50% всего пула) внутриклеточной формы фактора XIII (XIII-A_2) и роль ее еще недостаточно ясна.

Имеются сообщения, что степень поперечного связывания фибрина зависит как от концентрации в плазме фактора XIII (A_2B_2), так и от количества тромбоцитов [136, 155-158]. По сравнению с бедной тромбоцитами плазмой в богатой тромбоцитами плазме поперечное связывание α2-антиплазмина к фибрину происходит более интенсивно, при этом скорость фибринолиза уменьшается [136]. Reed предположил, что тромбоцитарный фактор XIII (A_2) дополняет плазменный фактор XIII (A_2B_2) в реакции поперечного связывания [155, 156]. Однако Aoki не мог подтвердить эту гипотезу, поскольку в данных экспериментах не учитывалось возможное влияние самих тромбоцитов на свойства фибринового сгустка [157]. Исследования Hevessy показали, что в богатой тромбоцитами плазме тромбоцитарный фактор XIII (A_2) незначительно используется, если вообще задействован, в процессе поперечного связывания [158]. При этом как нормальные тромбоциты, так и тромбоциты, не содержащие фактор XIII (A_2), значительно ускоряют поперечное связывание фибринмономеров. Таким образом, можно предположить, что эффект тромбоцитов, потенцирующий стабилизацию фибрина, не связан с содержанием в них фактора XIII-A_2.

Определено, что фактор XIII связывается преимущественно с активированными тромбоцитами [159]. Greenberg и Shuman описали существование поверхностного рецептора на мембране для активированного фактора XIIIa; причем этот рецептор обнаруживается только на тромбоцитах, активированных тромбином [160]. На мембране тромбоцитов фактор XIIIa сохраняет свою ферментативную активность. Эти авторы показали также, что фактор XIIIa связывается с тромбоцитами при тромбастении Гланцмана, при которой на этих клетках отсутствуют рецепторы GPIIb-IIIa. Однако по виду рецептора, связывающего фактора XIII, в литературе существуют противоречивые данные. Cox обнаружил, что моноклональные антитела к GPIIb-IIIa предупреждают связывание фактора XIIIa к активированным тромбином тромбоцитам. Кроме того, фактор XIIIa связывался с очищенным комплексом GPIIb-IIIa [161].

Исходя из того, что фибринстабилизирующий фактор связывается с рецептором на активированных тромбоцитах, оставаясь при этом ферментативно активным, Musbeck et al. предположили, что фактор XIIIa направляется и концентрируется в местах, где формируется тромбоцитарная пробка [1]. Все эти данные помогут в дальнейшем уточнить роль тромбоцитов в стабилизации фибрина.

2. Методы определения фактора XIII

Определение основных параметров гемостаза (количество тромбоцитов, время кровотечения, АПТВ, протромбиновое и тромбиновое время свертывания, концентрация фибриногена) не дает информации об аномалиях количественного содержания фактора XIII, в связи с чем данная патология часто не выявляется [162, 163]. Прогресс в познании роли фактора XIII в механизмах развития нарушений гемостаза был обусловлен созданием методических приемов его количественного определения. Суммируя данные литературы, все известные методы определения фактора XIII можно разделить на иммунологические и функциональные.

Иммунологические методы предусматривают определение уровня антигена фактора XIII в плазме крови, на основе использования, как правило, моноклональных антител. Наиболее распространенным среди них является метод иммуноферментного анализа (ELISA), с помощью которого измеряют количество антигена как всего тетрамерного комплекса фактора XIII (A_2B_2), так и его субъединиц А и В в отдельности [164, 165]. Поскольку концентрация субъединиц А и В в плазме крови может изменяться независимо друг от друга, концентрация всего тетрамерного комплекса отражает истинный уровень фактора XIII [166]. Вместе с тем при наследственном дефиците фактора XIII отдельное определение его субъединиц позволяет идентифицировать генетический тип заболевания соответственно имеющейся генетической классификации [167, 168].

Важно отметить, что в большинстве публикаций между уровнем антигена фактора XIII и его специфической активностью, оцененной с помощью функциональных методов исследования, отмечается прямая корреляционная связь [69, 169-171]. В то же время имеются отдельные сообщения, указывающие, что лица с высоким уровнем антигена фактора XIII могут иметь низкую функциональную активность данного фактора, и наоборот [172]. Исследования Anwar et al., проведенные в популяции практически здоровых людей, также выявили слабую (r=0,324) корреляционную связь между уровнем антигена и функциональной активностью фактора XIII [173]. Тем не менее, суммируя имеющуюся информацию, мы пришли к заключению, что первичный скрининг патологических

сдвигов фактора XIII можно проводить с помощью функциональных методов анализа (см. ниже). На втором этапе, при имеющемся снижении функциональной активности фактора XIII, показано иммунологическое определение субъединиц A и B, что позволяет идентифицировать тип генетического дефекта.

Ниже приводится анализ существующих на сегодняшний день функциональных методов определения активности фактора XIII. Эти способы оценивают фактор XIII по его специфической активности в плазме крови, освобожденной от тромбоцитов. В соответствии с используемым принципом их разделяют [172] на две группы.

Фотометрические методы, в т.ч.:

а) методы, основанные на измерении количества высвободившегося в результате реакции аммиака [174, 175];

б) методы, оценивающие активность фактора XIIIa по количеству образовавшихся связей между молекулами специфических субстратов для фактора XIII, при использовании аминов, меченных радиоизотопной [176] или флюоресцентной метками [177, 178], а также с применением хромогенных субстратов [179-182];

Методы, основанные на оценке растворимости фибринового сгустка [5], стабилизированного фактором XIIIa, в слабой кислоте (монохлоруксусной) или основаниях (мочевина).

Фотометрические методы относят к числу достаточно точных при определении активности фактора XIIIa в плазме крови. Наибольшее распространение получили те из них, которые основаны на высвобождении аммиака в результате ферментативной реакции [174, 175, 183-185]. Данная реакция протекает между двумя специфическими пептидными субстратами под действием фактора XIIIa, источником которого является исследуемая плазма. Для предотвращения образования фибринового сгустка, который отрицательно влияет на результаты исследования, в реагирующую смесь добавляют ингибитор полимеризации фибрина (монойод-ацетат). Высвободившийся аммиак вступает в окислительно-востановительную реакцию с α-кетоглутаровой кислотой под действием глутаматдегидрогеназы, в результате чего происходит окисление NAD H до NAD. Снижение NAD H измеряется по изменению оптической плотности при 340 нм. В данном случае используется свойство NAD H поглощать данную длину волн. Трансформация 1M NAD H в NAD во время трансглутаминазной реакции соответствует освобождению 1M-аммиака. Таким образом, активность фактора XIIIa оказывается прямо пропорциональной интенсивности окисления NAD H.

Наибольшее признание получил среди указанных способов кинетический метод определения активности фактора XIIIa, предложенный Fickensher в 1991 году [175]. При апробации у больных данный метод оказался достаточно чувствительным и был рекомендован для широкого применения в клинической практике [186-188]. Однако, по мнению Heins et al., этот метод имеет существенный недостаток: гиперфибриногенемия приводит к ложному занижению определяемого показателя активности фактора XIII. В связи с чем этой группой исследователей была предложена модификация метода для исключения влияния концентрации фибриногена на результаты теста [189]. Наконец, более поздняя модификация была предпринята Karpati в 2000 году, в результате чего была увеличена чувствительность и точность метода путем создания нового глутаминового субстрата, заменой NAD H на NADP H, а также подбора оптимального соотношения концентраций субстратов и активаторов фактора XIII [190]. На этой основе фирмой Dade Behring был создан и запущен в производство диагностический набор реагентов Berichrom®FXIII.

В последнее время были разработаны и внедрены новые колориметрические методы, использующие для оценки трансглутаминазной активности фактора XIII хромогенные субстраты. Принцип метода заключается в образовании изопептидных связей под действием фактора XIIIa между специфическими субстратами: так называемым аминосубстратом (biotinyl- cadaverine) и иммобилизованным на планшете глутаминовым субстратом (dimethylcasein или fibrinogen). Этот комплекс выявляется с помощью моноклональных антител, конъюгированных с ферментом (streptavidin). Последний расщепляет добавленный хромогенный субстрат (p-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside или p-nitrophenyl-phosphate), при этом по интенсивности образующейся окраски судят об активности фактора XIIIa [179-181]. В Швейцарии в 2001 году был разработан колориметрический метод определения активности фактора XIII, на основе которого фирмой Pentapharm был создан диагностический набор реагентов Pefakit®FXIII Incorporation Assay [172]. При апробации у здоровых людей, а также у больных с наследственным дефицитом фактора XIII, включая использование в целях мониторинга заместительной терапии концентратами фактора XIII, этот метод показал высокую специфичность (отсутствие влияние фибриногена на результаты анализа) и чувствительность (измерение от 0% и выше). Особенностью метода является возможность определять повышенную активность фактора XIIIa при наличии мутации Val34Leu субъединицы A фактора XIII.

Другую большую группу представляют методы, основанные на оценке растворимости фибринового сгустка

в слабых кислотах и основаниях. К их числу относится еще широко используемый для проведения скрининга в клинических лабораториях способ оценки фибринстабилизирующей активности плазмы крови по лизису фибринового сгустка в растворе 5М-мочевины (5). Данный сгусток получается из фибриногена исследуемой стабилизированной цитратом плазмы в процессе ее рекальцификации. Основным недостатком методики является его низкая чувствительность, поскольку получаемый сгусток растворяется лишь при глубоком (<2%) дефиците фактора XIII [191-193]. Но в силу доступности и простоты выполнения он все же используется для проведения скрининга наследственного дефицита фактора XIII, частота которого, впрочем, крайне низка — по данным разных авторов 1 случай на 2 000 000-5 000 000 [14, 194]. Учитывая то, что кровоточивость при врожденном дефиците фактора XIII возникает и при менее выраженном дефекте (3-10% активности фактора XIII), информативность метода представляется сомнительной [195].

Сравнительно более чувствительный метод определения фактора XIII предложили Sigg et al. в 1966 году [196]. Этот метод также основан на свойстве полученного при рекальцификации плазмы фибринового сгустка, стабилизированного фактором XIIIa, быть нерастворимым в растворе 5М-мочевины. Чувствительность была повышена за счет того, что в методику введено титрование фактора XIII в плазме с помощью монойодуксусной кислоты, являющейся ингибитором активного центра фермента. Остаточная активность фактора XIII далее определяется по степени лизиса сгустка, что оценивается затем в баллах (от 0 до 4). На основании суммы баллов по калибровочной кривой авторы предложили определение количества фактора XIII в процентах от нормы.

Отечественными учеными были разработаны две модификации последнего способа, в которых активность фактора XIIIa в пробе также изначально ограничивается добавлением монойодуксусной кислоты, но в одной фиксированной концентрации [197, 198].

В частности, в методе, предложенном В. П. Балудой и соавт. в 1965 году, лизис полученного при рекальцификации плазмы сгустка оценивается по времени его растворения (в норме около 70 секунд) в растворе 0,12% кислой щавелевокислой мочевины. Результаты рассчитываются также в процентах от нормы в зависимости от времени лизиса. Г. В. Андреенко и соавт. [198] усовершенствовали последний метод, исключив влияние концентрации фибриногена на результаты исследования, путем введения в формулу расчета поправки на этот белок.

При всех известных достоинствах два последних метода имеют следующие существенные недостатки [199]:

1. Влияние колебаний температуры от 10° до 30°С на результаты исследования.
2. Использование эндогенного фибриногена в качестве субстрата для определения активности фактора XIII не всегда удобно в связи с тем, что в плазме отдельных больных может быть нарушена рекальцификация в силу разных причин (гепаринотерапия, дефицит факторов свертывания, ДВС-синдром и др.)

Кроме того, на наш взгляд, используемая частичная инактивация фактора XIII монойодуксусной кислотой представляется не вполне обоснованной и стандартизованной.

Более прогрессивным подходом в совершенствовании этой группы методов было выделение и использование внешнего стабильного субстрата в качестве источника образования фибринового сгустка. Этот путь был избран группой Jasso в 1964 году, а в последующем М. А. Уманским и В. М. Берлинтом в 1972 году [200, 201]. Оба этих метода предусматривают полуколичественное определение активности фактора XIII, основанное на оценке лизиса фибринового сгустка сформированного в разных разведениях исследуемой плазмы из очищенного от фактора XIII человеческого или бычьего фибриногена. Искомым в этих методах является то наибольшее разведение плазмы, в котором сгусток еще не лизируется из-за достаточного уровня в нем фактора XIII.

На этой основе фирмой Boehringer Mannheim был создан и успешно апробирован диагностический набор реагентов Factor XIII.

Получение фибриногена, очищенного от следов фактора XIII, как известно, представляет сложную задачу [202, 203], такие препараты дорогостоящи, что потенциально ограничивает их использование в клинической практике. В лаборатории гемостаза ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета получен фибринмономер, способный быть субстратом для фактора XIII, и в то же время легко изготовляемый в чистом виде без примесей фактора XIII. На этой основе был разработан новый метод определения активности фактора XIII с использованием стабильного препарата фибрин-мономера — дез-ААВВ-фибрин (заявка на патент № 2001121101 приоритет от 26.07.2001), описание которого приведено ниже.

Принцип

Субстратом для фактора XIIIa служит сгусток фибрина, получаемый в результате добавления к плазме фибрин-мономера. Определяют то наибольшее разведение исследуемой плазмы, в котором такой сгусток еще не лизировался под действием монохлоруксусной кислоты. Активность фактора XIII рассчитывают в % от нормы,

сравнивая искомые разведения, полученные при исследовании контрольной нормальной плазмы и плазмы больного.

Реактивы и оборудование

1. Цитрат натрия, трехзамещенный, 3,8% раствор, получают растворением 3,8 г цитрата натрия в 100 мл дистиллированной воды.
2. Фибринмономер из плазмы крови человека (лиофильно высушенный), производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия.
3. Буфер трис-HCl 0,01 М, pH 7,3-7,4, с каолином (легкой фракции), в концентрации 1,0 мг/мл.
4. Хлорид кальция, 0,554% раствор.
5. Монохлоруксусная кислота, 5% раствор.
6. Центрифуга ОПН-8.
7. Термостат для исследования гемокоагуляции (ТПС).
8. Секундомер.
9. Пробирки стеклянные, объемом 20 мл.
10. Цилиндр стеклянный мерный, на 100 мл.
11. Осветитель для микроскопа ОИ-32.

Получение анализируемых образцов плазмы

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-замещенного (цитрата натрия),соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов плазмы при температуре -16...-20°С на срок до 1 месяца.

Ход определения

Приготовление серии разведений плазмы (бедной тромбоцитами контрольной нормальной плазмы или плазмы больного).

Используют ряд из 11 пробирок, которые нумеруют. Затем в пробирки под № 1-5, 7, 9 и 11 вносят по 1,0 мл дистиллированной воды. Пробирки под № 6, 8 и 10 остаются пустыми для приготовления промежуточных (дополнительных) разведений. Разведение плазмы производят в соответствии с таблицей.

Получение сгустка фибрина в разведениях плазмы и оценка его лизиса.

Исследуют следующие разведения плазмы: 1:32; 1:48; 1:64; 1:96; 1:128. В каждую из 5 чистых пробирок последовательно вносят по 0,1 мл раствора хлористого кальция и 0,1 мл буфера с каолином. Затем в каждую из пробирок вносят по 0,2 мл разведенной плазмы — в первую пробирку — разведение 1:32, во вторую — 1:48, в третью — 1:64, в четвертую — 1:96 и в пятую — 1:128. Затем в каждую из пробирок добавляют по 0,1 мл раствора фибрин-мономера.

Включают секундомер, и полученные смеси инкубируют на водяной бане при +37°С в течение 20 минут. По истечении времени инкубации пробирки достают из водяной бани, добавляют в каждую по 0,5 мл 5% раствора монохлоруксусной кислоты и выдерживают их при комнатной температуре (+18...+25°С) в течение 3 мин.

В проходящем свете, наклоняя пробирку, определяют, произошло ли растворение сгустка фибрина. Лизис сгустка отмечают знаком «+», отсутствие лизиса (имеется сгусток или нити фибрина) — знаком «-». Искомым является то наибольшее разведение плазмы, в котором отсутствует лизис сгустка.

Таблица

Последовательность приготовления разведений		
Номер пробирки	Производимое действие	Степень разведения плазмы
1	Вносят 1,0 мл плазмы;	1:2
2	1,0 смеси из 1-й пробирки переносят во вторую пробирку, перемешивают, втряхиванием	1:4
3	1,0 смеси из 2-й пробирки переносят в третью пробирку, перемешивают	1:8
4	1,0 мл смеси из 3-й пробирки переносят в четвертую пробирку, перемешивают	1:16
5	1,0 мл смеси из 4-й пробирки переносят в пятую пробирку, перемешивают	1:32
7	1,0 мл смеси из 5-й пробирки переносят в седьмую пробирку, перемешивают	1:64
9	1,0 мл смеси из 7-й пробирки переносят в девятую пробирку, перемешивают	1:128
11	1,0 мл смеси из 9-й пробирки переносят в одиннадцатую пробирку, перемешивают	1:256
Дополнительные (промежуточные) разведения		
6	Вносят по 0,2 мл смеси из 7-й и 5-й пробирок, перемешивают	1:48
8	Вносят по 0,2 мл смеси из 9-й и 7-й пробирок, перемешивают	1:96
10	Вносят по 0,2 мл смеси из 11-й и 9-й пробирок, перемешивают	1:192

Оценка результатов. Расчет активности фактора XIII производят по формуле:

$$\textbf{Активность фактора XIII, \%} = \frac{\textbf{Разведение}_{\textbf{контроль}}}{\textbf{Разведение}_{\textbf{опыт}}} \times \textbf{100\%}$$

где: Разведение$_{контроль}$ — наибольшее разведение нормальной контрольной плазмы, в котором нет лизиса,

Разведение$_{опыт}$ — наибольшее разведение исследуемого образца плазмы, в котором нет лизиса.

Пример: Разведение$_{контроль}$ = 1:64, Разведение$_{опыт}$ = 1:8. Активность фактор XIIIa = 8/64x100% = 12%.

Нижний предел чувствительности метода равен 1,5%. Измеряемый диапазон активности фактора XIII в плазме крови составляет от 1,5 до 400%.

По результатам обследования 110 практически здоровых людей нормальные показатели активности фактора XIII (X±2σ) составили 74 — 124% (X=99,1%; σ=12,4; m=1,24), что соответствует искомому разведению плазмы — 1:64.

3.Изменения количественного содержания фактора XIII в плазме крови человека

Современный уровень знаний о роли фактора XIII в формировании патологии гемостаза пока недостаточен и непрерывно пополняется. Давно известно о геморрагическом диатезе, связанном с наследственным глубоким дефицитом фактора XIII, который вызван генетическими аномалиями составляющих его субъединиц [204-207]. На этом фоне значение приобретенного умеренного дефицита фибринстабилизирующего фактора (20-60%) в патогенезе кровоточивости остается мало изученным, в т. ч. и при сочетании с другими причинами, обусловливающими эти расстройства [208-210]. С другой стороны, сообщения о роли повышенной активности фактора XIII в развитии тромбофилического состояния единичны и противоречивы [166, 211-213]. В настоящем разделе обзора приведен анализ сообщений, посвященных всем этим вопросам.

3.1. Виды патологии, протекающие с дефицитом фактора XIII

Роль фибринстабилизирующего фактора в развитии нарушений свертывания крови стала очевидна, когда Duckert в 1960 году впервые выявил двух братьев с тяжелым геморрагическим синдромом, у которых фибриновый сгусток растворялся в мочевине, в то время как аналогичный сгусток, полученный в плазме здорового человека, оставался стабильным (2). Выделяют первичное снижение концентрации фактора XIII, которое наблюдается при врожденных генетически обусловленных аномалиях его субъединиц [214-216] и вторичное, встречающееся при ряде фоновых заболеваний, включая ДВС-синдром, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, геморрагический микротромбоваскулит, злокачественные новообразования и другие виды патологии [217-224].

3.1.1. Наследственный дефицит фактора XIII

Первичный дефицит фактора XIII представляет собой редкое аутосомно-рецессивное заболевание с примерной частотой 1 случай на 2 000 000-5 000 000 [14, 194]. Причиной врожденного дефицита фактора XIII являются одиночные или множественные мутации генов, кодирующих субъединицу XIIIA и XIIIB [225-227].

Классификация наследственного дефицита фактора XIII

Первоначально наследственный дефицит фактора XIII подразделяли на два типа: тип I, для которого характерно отсутствие обеих субъединиц фактора XIII (XIIIA и XIIIB); тип II, характеризующийся отсутствием только субъединицы A (XIIIA) фактора XIII [167]. В дальнейшем по результатам генетического анализа рядом исследователей было выявлено, что наблюдаемое при типе I снижение обеих субъединиц развивается в результате генетических дефектов субъединицы B (XIIIB), а субъединица A (XIIIA) снижается уже вторично из-за отсутствия достаточного количества защищающей ее субъединицы B. При этом в тромбоцитах субъединица A присутствует в нормальных количествах [168, 228]. С учетом этих данных в 1999 году Комитетом по научным исследованиям и стандартизации Интернационального общества по тромбозам и гемостазу (ISTH) была принята новая уточненная генетическая классификация наследственного дефицита фактора XIII: 1) дефицит субъединицы A (ранее известный как тип II); 2) дефицит субъединицы B (прежде — тип I) и возможный; 3) комбинированный дефицит обеих субъединиц [168, 194].

Из перечисленных форм генетического дефекта наиболее часто встречаемым является дефицит субъединицы A. С 1960 по 1996 год было описано около 20 различных мутаций гена субъединицы A, приводящих к ее снижению [207, 229-232]. В результате таких мутаций меняется конформация молекулы, она становится нестабильной и более подверженной разрушающему действию протеолитических ферментов крови [214, 215, 233].

Мутации гена субъединцы B встречаются гораздо реже. За период с 1960 по 2001 год было выявлено всего несколько случаев дефицита субъединицы B (3 случая в Японии и 2 семьи — в Италии) [167, 194, 228, 234-237]. Важно отметить, что не только гомозиготное, но и гетерозиготное носительство мутаций приводит к дефициту и снижению активности фактора XIII, что может вызывать кровотечения [207, 238-240].

Клинические проявления дефицита фактора XIII

В настоящее время выявлено уже более 200 больных с наследственным дефицитом фактора XIII, клиническая картина которого обусловлена смешанным, микроциркуляторно-гематомным типом кровоточивости [14, 162, 194]. Наиболее ранним и характерным признаком этого заболевания является медленное заживление пупочной ранки у новорожденных и кровотечение из нее в первые недели жизни [241-244]. Этот симптом выявляется почти во всех случаях заболевания [245-248]. В 71% случаев первичного дефицита наблюдается повышенная склонность к формированию рецидивирующих синяков, подкожных и межмышечных гематом, которые могут возникнуть после небольших травм [249, 250]. Одной из главных причин смерти и инвалидизации этих больных являются кровоизлияния в мозг и его оболочки, которые встречаются, по данным разных авторов, в 18-25% случаев и характеризуются рецидивирующим течением, начиная с детского возраста [162, 195, 241, 242, 248-250]. Для дефицита фактора XIII характерны также так называемые «поздние» или «отсроченные» кровотечения, которые возникают через 12-72 часа после травмы или операции (удаление зуба, ушиб, порезы, хирургические вмешательства). Такие кровотечения связаны с меньшей резистентностью сформированного тромба к тромболизису [163, 243, 251]. Описаны также гемартрозы крупных суставов, кровоизлияния в брюшную полость и забрюшинное пространство, желудочно-кишечные кровотечения и макрогематурия, но они встречаются более редко и, как правило, спровоцированы травмой [252].

Первичный дефицит фактора XIII и плохое заживление ран

Представление о том, что фактор XIII участвует в процессах репарации, основано на первом наблюдении Duckert et al. нарушения заживления ран у больного с наследственным дефицитом фактора XIII [2]. В дальнейших работах показано, что лишь у 15-18% больных этим геморрагическим диатезом выявляется данный симптом [194, 249, 254, 255]. При проведении исследований в период с 1993 по 1996 годы в Европе было выявлено 72 человека с наследственным дефицитом фактора XIII. Из них проблемы с заживлением ран наблюдались только в 26 (36%) случаях [195]. Muszbek et al. предположили существование еще каких-то нераспознанных пока дефектов механизма заживления ран, которые становятся очевидными при дефиците фактора XIII (1). Успех лечебного применения концентрата фактора XIII подтверждает участие этого фактора в процессах заживления ран и тканевой репарации [255-258]. Замечено, что местное применение фактора XIII для лечения язв на ногах при варикозной болезни и сахарном диабете значительно улучшало тенденцию их заживления и уменьшало отечность [259-262]. Был описан случай заживления длительно существующих и рецидивирующих пролежней при парентеральном введении концентрата фактора XIII [258]. Между тем отметим, что наружное применение криопреципитата, активность фактора XIII в котором составляет 200-500%, для лечения трофических язв в клинике Алтайского гематологического центра не прижилось в виду выраженной болезненности процедуры. Курсовое лечение большими дозами концентрата человеческого плацентарного фактора XIII имело положительный эффект для заживления переломов костей как у животных, так и у людей [263, 264].

Первичный дефицит фактора XIII и невынашивание беременности

Имеются данные, что женщины, страдающие наследственным дефицитом фактора XIII, не способны вынашивать беременность, выкидыши происходят на ранних сроках (5-10 недель беременности), и для успешного вынашивания необходимо постоянное профилактическое введение концентрата фактора XIII, начиная с 5-й недели гестации [254, 265-268]. Вместе с тем имеются публикации, согласно которым привычное невынашивание наблюдается не во всех случаях дефицита фактора XIII [195, 269]. В проведенном в 1996 году исследовании ETRO в Европе из 30 женщин фертильного возраста с наследственным дефицитом фактора XIII лишь у 7 (23%) наблюдались выкидыши [195].

Ключом к пониманию этой проблемы могут служить единичные пока работы, направленные на изучение процесса плацентации, и участие в нем внутриклеточной формы фактора XIII (XIIIA2), которая была обнаружена в материнской части плаценты и макрофагах матки здоровых женщин [31, 270]. Начиная с 5-й недели нормальной беременности в мезенхиме хориона появляются моноциты крови, содержащие внутриклеточный фактор XIIIA2, а к 7-й неделе их количество достигает 30% всех мезенхимальных клеток хориона. В это время моноциты дифференцируются, превращаются в вакуолизированные макрофаги, а с 8-й недели начинают распределяться по периферии хориона, в

то время как в центре происходит интенсивное формирование фиброзной ткани [36].

Все эти данные, а также отсутствие субъединицы А фактора XIII в макрофагах при гомозиготном наследственном его дефиците, позволяет предположить возможное участие внутриклеточной формы фактора XIII в успешном протекании беременности [271]. Однако тот факт, что введение концентрата фактора XIII таким женщинам, т. е. поддержание плазменного пула этого фактора, предотвращает выкидыши, не поддерживает это предположение. Таким образом, роль фактора XIII (как плазменной, так и внутриклеточной его формы) в поддержании беременности остается недостаточно изученной и требует дальнейших исследований.

3.1.2.Приобретенный дефицит фактора XIII

Приобретенный дефицит фибринстаби- лизирующего фактора встречается чаще, чем наследственный, и определяется большинством исследователей как один из важных факторов, способствующих развитию геморрагического синдрома [209-211, 169-171, 272-275]. Следует отметить, что при большинстве вариантов вторичного дефицита фибринстабилизирующего фактора у больных наблюдается умеренное, в сравнении с наследственным дефицитом, снижение его активности (в диапазоне от 20 до 70% от нормы).

Достаточно большое количество встречающихся работ в этой области посвящено изучению снижения фактора XIII при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в т.ч. инфекционных колитах, неспецифическом язвенном колите и болезни Крона [171, 210, 217, 276- 282]. Степень этого снижения коррелирует с выраженностью воспалительного процесса и активацией системы свертывания крови [239, 277-280]. Причем наибольшее его снижение (до 20-40% от нормы) наблюдалось у таких больных с осложнениями в виде кишечного кровотечения [210, 217]. Некоторые авторы отмечают прямую связь снижения фактора XIII с протяженностью зоны поражения кишечника [217, 278, 281]. Имеются работы, подтверждающие, что парентеральное введение концентрата фактора XIII способствует выздоровлению и восстановлению кишечного эпителия при данных заболеваниях [282-287], даже в резистентных к традиционной терапии случаях [277, 288].

Ряд публикаций посвящен изучению роли фактора XIII в формировании геморрагического синдрома при различных видах внутрисосудистого свертывания крови, встречающихся при геморрагическом микротромбоваскулите [218, 273, 282, 289-292], онкологических заболеваниях [223, 293-313], острых венозных тромбозах [318], верифицированном ДВС-синдроме [220-222, 275, 315-317], состояниях после операции или травмы [168-170, 220, 274, 275, 314] и при некоторых других видах патологии [319-322].

К особому варианту вторичного дефицита фактора XIII относятся описанные в литературе случаи наличия иммунного ингибитора субъединицы А, относящегося к классу Ig G [208, 323-331].

К экзотическому варианту приобретенного дефицита фибринстабилизирующего фактора относят геморрагический диатез, вызванный укусом змеи Lonomia achelous caterpillars, обитающий в Южной Америке. Впервые его описал Arocha-Pinango в 1967 году [332]. Клиническая картина последствий укуса оказалась весьма схожей с проявлениями, характерными для наследственного дефицита фактора XIII. В частности, у больных наблюдалась выраженная кровоточивость из кожи и слизистых оболочек, макрогематурия, мелена, внутричерепные кровоизлияния. При патанатомическом вскрытии укушенных обнаруживались массивные внутричерепные гематомы, кровоизлияния в брюшную и грудную полости. Такие клинические случаи были описаны в Венесуэле [333, 334], Бразилии [335] и Французской Гвинее [336]. При изучении механизма действия яда змеи Lonomia achelous caterpillars выяснилось, что наряду с умеренным снижением уровня фибриногена, плазминогена, при нормальном количестве тромбоцитов, нормальном АПТВ, протромбиновом и тромбиновом тестах, наблюдалось резкое снижение активности фактора XIII в плазме крови, причем как субъединицы А, так и В, хотя последняя оказалась более устойчивой к действию яда [69]. Хроматографически очищенная из этого яда фракция FIID, которая обладала способностью специфически ингибировать фактор XIII, получила название Lonomin V. В экспериментах in vitro показано, что Lonomin V вызывает дозозависимое снижение активности очищенного фактора XIII, что подтверждает его непосредственное действие на данный фактор [70]. Причем разрушается как профермент, так и его активированная форма. Выяснилось, что снижение активности фактора XIII было более выражено в тромбоцитах, чем в плазме крови, что связано с отсутствием защитной субъединицы В в тромбоцитарной форме фактора XIII ($XIIA_2$), и имеющаяся в тромбоцитах субъединица А больше подвержена действию этой сериновой протеазы [337]. Прямое ингибирование трансглутаминазной активности фактора XIII приводит к нарушению поперечного связывания фибрина, что может ускорять лизис тромба, уменьшать его рост и предотвращать ретромбозы [338, 339]. На модели тромбоза яремной вены у

кроликов было проведено исследование по оценке лизиса тромба, с помощью очищенной фракции яда - Lonomin V, в сравнении с тканевым активатором плазминогена (ТПА) и урокиназой. Показано, что Lonomin V способствует дозозависимому тромболизису, адекватному степени снижения активности фактора XIII. Причем Lonomin V индуцировал слабый лизис по сравнению с ТПА, но значительно более сильный по сравнению с урокиназой. При сравнении тромболитическо- го эффекта препаратов Lonomin V и ТПА, применяемых отдельно и вместе (Lonomin V+ТПА), наибольший тромболизис наблюдался при сочетании Lonomin V с ТПА, при этом также значительно уменьшалось присоединение фибрина к тромбу, что расценивалось как возможность снижения риска ретромбозов при проведении тромболитической терапии.

3.1.3. Коррекция дефицита фактора XIII

Для лечения как наследственного, так и приобретенного дефицита фибрин стабилизирующего фактора рекомендовано использовать препараты свежезамороженной плазмы, криопреципитата и концентратов фактора XIII [265, 266, 294, 340-343]. В последние годы более перспективным представляется применение концентратов фактора XIII [342, 343]. Существует два вирус-инактивированных препарата концентрата фактора XIII, полученного из плазмы крови человека [344]. Первый из них, Fibrogammin P (Centeon LLC, Королевство Пруссии, PA, США; и Centeon Pharma GmbH, Марбург, Германия), распространяется на территории Европы, Америки, Южной Африки, Японии. Другой концентрат фактора XIII (Bio Products Laboratory, Elstree, UK) доступен только в Великобритании. Для лечения больных применяется также концентрат фактора XIII, полученный из плаценты человека [237, 345]. Сравнительное исследование концентратов фактора XIII из плазмы крови и плаценты не выявили между ними больших различий в периоде полужизни антигена (около 8-9 дней) и активности фактора XIII в крови пациентов [346]. Оба препарата показали высокую эффективность для заместительной терапии. Рекомендуемая доза для профилактики геморрагических эпизодов у больных с наследственным дефицитом фактора XIII при этом отставляет в среднем 30 ед/кг/месяц [347].

Препарат последнего поколения — рекомбинантный фактор XIII (rFXIII) — пока еще не получил широкого распространения, но при его изучении и сравнении с концентратами фактора XIII были получены хорошие результаты [346, 257, 348-350].

Ряд авторов рекомендуют проводить заместительную терапию при приобретенном дефиците фактора XIII [170, 238, 287, 302, 341]. Нам встретилось большое число положительных примеров эффективного использования концентрата фактора XIII для лечения кровоточивости и заболеваний, протекающих с нарушением репарации тканей (послеоперационные кровотечения, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона и другие). Ссылки на эти работы приведены в разделе 3.1.2.

3.2. К участию повышенной активности фактора XIII в развитии тромбофилических состояний

Как известно, к тромбофилиям относят те нарушения гемостаза, при которых имеется предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов. Учитывая то, что тромбозы сосудов, инфаркты и ишемии органов занимают одно из ведущих мест среди причин смертности и инвалидизации больных, изучение вопросов этиологии, диагностики и лечения этих состояний находится в центре внимания специалистов [282, 351-355].

В настоящее время общепринята классификация основных видов гематогенных тромбофилий (З. С. Баркаган, 1996-2001), среди которых к числу часто встречаемых относят гемореологические формы, резистентность фактора Va к активированному протеину С, гипергомоцистеинемию, антифосфолипидный синдром и ряд других нарушений. Из них к наиболее тромбогенным относят так называемые комбинированные формы, при которых склонность к тромбозам обусловлена сочетанием двух и более причин. При этих формах тромбозы, как известно, возникают в более раннем возрасте и с более высокой частотой [352-356].

Отметим, что к одним из патогенетических механизмов развития тромбофилических состояний относятся нарушения, связанные с дефектом лизиса фибринового сгустка. Последний, как известно, встречается при нарушениях в системе фибринолиза, чаще всего при дефиците тканевого активатора плазминогена (ТПА), избыточном содержании PAI-1 и PAI-2, дефиците или аномалиях плазминогена, а также при некоторых тромбогенных дисфибриногенемиях, при которых сгусток имеет повышенную резистентность к лизису плазмином. Имеются отдельные сообщения, свидетельствующие о возможной роли в этом сверхстабилизации фибрина при повышении уровня и активности фактора XIII. Так, в 2001 Franz et al. показали, что сгусток фибрина, сформированный при высоком уровне фактора XIII, значительно хуже лизируется плазмином, причем этот эффект напрямую зависит от активности фактора XIII [136]. И наоборот, при экспериментальном ингибировании фактора XIIIa степень лизиса сгустка значительно возрастала [135, 156, 338, 339].

Таким образом, повышение активности фактора XIIIa, по-видимому, может играть существенную роль в регуляции фибринолиза, поддерживая тем самым процесс тромбообразования.

В последние годы большой интерес у исследователей вызывает недавно обнаруженный полиморфизм гена F13A1, приводящий к замене аминокислоты Val на Leu в положении 34 субъединицы А фактора XIII, рядом с местом протеолитической активации фактора [357]. Этот полиморфизм достаточно широко распространен в популяции (0,27 в популяции Australian Caucasian) и исследуется в настоящее время в качестве потенциального фактора, участвующего в формировании тромбозов [173, 211, 357]. Этим, отчасти, может объясняться и высокий верхний предел, и широкие границы нормы (66-134%), соответствующие активности фактора XIII [173]. В работах, посвященных этому вопросу, установлено, что гомозиготные мутации приводят к значительному повышению уровня активности фактора XIII [173, 358-361]. При генотипе Leu34Leu активность фактора XIII была на 60% выше, чем при генотипе Val34Val [358]. Однако в ряде исследований было показано, что генотип 34Leu, способствующий повышению активности фактора XIII, непонятным образом защищает организм человека от венозных тромбозов, ТЭЛА, ишемического инсульта и инфаркта миокарда [213, 362-369]. Другие авторы не обнаружили такого защитного эффекта при данной мутации [166, 370-374].

Таким образом, роль фактора XIII в формировании тромбозов, тромбофилий и их осложнений изучена пока недостаточно. Сообщения на эту тему представляются противоречивыми, что подчеркивает важность и актуальность выполнения работ в данном направлении.

Список литературы

1. Muszbek L., Yee V., Hevessy Z. // Thromb. Res. – 1999. – V.94. – P. 271–305.
2. Duckert F., Jung E., Shmerling D. // Thrombos. Diath. Haemorrh. – 1960. – V.5. – P. 179–186.
3. Barkan G., Gaspar A. // Biochem Ztschr. – 1923. – V.139. – P. 291–301.
4. Robbins K. C. // Am. J. Physiol. – 1944. –V.142. – P. 581-588.
5. Laki K, Lorand L. // Science. – 1948. – V.108. – P. 280.
6. Lorand L. // Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. – 1948. – P. 192–196.
7. Lorand L. // Nature. – 1950. – V.166. –P. 694–696.
8. Loewy A., Veneziale C., Forman M. // Biochim. Biophys. Acta. – 1957. – V.26. – P. 670–671.
9. Loewy A., Dunathan K., Kriel K., Wolfinger J. Fibrinase I. // J. Biol. Chem. – 1961. – V.236. – P. 2625–2633.
10. Loewy A., Dahlberg A., Dunathan K., Kriel K., Wolfinger J. // J. Biol. Chem. – 1961. – V.236. – P. 2634–2643.
11. Loewy AG, Dunathan K, Gallant JA, Gardner B. // J. Biol. Chem. – 1961. – V.236. – P. 2644–2647.
12. Loewy AG, Gallant JA, Dunathan K. // J. Biol. Chem. – 1961. – V.236. – P. 2648–2655.
13. Lorand L., Conrad S. // Mol. Cell. Biochem. – 1984. – V.58. – P. 9–35.
14. Зубаиров Д. М. / Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. – Казань, Фэн, 2000. - 367с.
15. Carrell N. A., Erickson H. P., McDonagh J. // J. Biol. Chem. – 1989. - V.264. – P. 551–556.
16. Mary A., Achyuthan K., Greenberg C. // Biochim. Biophys. Acta. – 1988. – V.966. – P. 328–335.
17. Polgar J., Hidasi V., Muszbek L. // Biochem. J. – 1990. – V.267. – P. 557–560.
18. Radek J., Jeong J., Wilson J., Lorand L. // Biochemistry. – 1993. – 32. – P. 3527–3534.
19. Yorifuji H., Anderson K., Lynch G., Van deWater L., McDonagh J. // Blood. – 1988. – V.72. – P. 1645–1650.
20. Greenberg C. S., Shuman M. A. // J. Biol. Chem. – 1982. – V.257. – P. 6096–6101.
21. Greenberg C. S., Dobson J. V., Miraglia C. C. // Blood. – 1985. – V.66. – P. 1028–1034.
22. Mary A., Achyuthan K., Greenberg C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1987. – V.147. – P. 608–614.
23. Siebenlist K. R., Meh D. A., Mosesson M. W. // Biochemistry. – 1996. – V.35. – P. 10448–10453.
24. Buluk K. An unknown function of blood platelets. // Pol Tyg Lek. – 1955. – V.10. – P. 191.
25. Luscher E. F. // Schweiz. Med. Wochensch. – 1957. – V.87. – P. 1220–1221.
26. Bohn H. // Thromb. Diath. Haemorrh. – 1970. – V.23. – P. 455–468.
27. Kiesselbach T. H., Wagner R. H. // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1972. – V.202. – P. 318–328.
28. Adany R., Kiss A., Muszbek L. // Br. J. Haematol. – 1987. – V. 67. – P. 167–172.
29. Muszbek L., Adany R., Szegedi G., Polgar J., Kavai M. // Thromb. Res. – 1985. – V.37. – P. 401–410.
30. Henriksson P., Becker S., Lynch G., McDonagh J. // J. Clin. Invest. – 1985. – V.76. - 528–534.
31. Adany R., Glukhova M., Kabakov A., Muszbek L. // J Clin. Pathol. – 1988. – V.41. – P. 49–56.
32. Cerio R., Griffiths C. E., Cooper K. D., Nickoloff B. J., Headington J. T. // Br. J. Dermatol. – 1989. – V.121. – P. 421–431.
33. Nurminskaya M., Magee C., Nurminsky D., Linsenmayer T. // J. Cell Biol. – 1998. – V.142. – P. 1135–1144.
34. Fear J., Jackson P., Gray C., Miloszewski K., Losowsky M. // J. Clin. Pathol. – 1984. – V.37. – P. 560–563.
35. Derrick E. K., Barker J. N., Khan A., Price M. L., McDonald D. M. // Histopathology. – 1993. – V.22. – P. 157–162.
36. Kappelmayer J, Bacsko G, Kelemen E, Adany R. // Placenta. – 1994. – V.15. – P. 613–623.
37. Kaczmarek E., Liu Y., Berse B., Chen C., McDonagh J. // Biochim. Biophys. Acta. – 1995. – V.1247. - №1. – P. 127-134.
38. Adany R. // Sem Thromb Hemost. – 1996. – V.22. – P. 399–408.
39. Sixma J., van den Berg A., Schiphorst M., Geuze H. J., McDonagh J. // Thromb. Haemost. – 1984. – V.51. – P. 388-391.
40. Lopaciuk S., Lovette K., McDonagh J., Chuang H., McDonagh R. // Thromb. Res. – 1974. – V.8. – P. 453–465.
41. Broekman M. J., Handin R. J., Cohen P. // Br. J. Haematol. – 1975. – V.31. – P. 51–55.
42. Marx G., Korner G., Mou X., Gorodetsky R. // J. Cell. Physiol. – 1993. – V.156. – P. 437–442.
43. Weisberg L. J., Shiu D. T., Conkling P. R., Shuman M. A. // Blood. – 1987. – V.70. – P. 579–582.
44. Kradin R., Lynch G., Kurnick J., Erikson M., Colvin R., McDonagh J. // Blood. - 1987. – V.69. – P. 778–785.
45. Board P., Webb G., McKee J., Ichinose A. // Cytogenet. Cell Genet. – 1988. – V.48. – P. 25–27.
46. Webb G., Coggan M., Ichinose A., Board P. // Hum. Genet. – 1989. – V.81. – P. 157–160.
47. Wolpl A., Lattke H., Board P., Arnold A., Schmeiser T., Kubanek B., Robin-Winn M., Pichelmayr R., Goldmann S. // Transplantation. – 1987. – V.43. – P. 151–153.
48. Poon M., Russel J., Low S., Sinclair G., Jones A., Blahey W., Ruether B., Hoar D. // J. Clin. Invest. – 1989. – V.84. – P. 787–792.
49. Trimble C. L., Gray M. H., McNutt N. S. // Virchows. Archiv. A. Pathol. Anat. – 1992. – V.420. – P. 513–518.
50. Nagy J., Henriksson P., McDonagh J. // Blood. – 1986. – V.68. – P. 1272–1279.
51. Kaetsu H., Hashiguchi T., Foster D., Ichinose A. // J. Biochem. – 1996. – V.119. – P. 961–969.
52. Lorand L. // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1986. – V.485. – P. 144–158.
53. Muszbek L, Laki K. / The Thrombin. / Ed. Machovich R. - Boca Raton: CRC Press. - 1984. - P. 83–102.
54. Yee V. C., Pedersen L. C., Bishop P. D., Stenkamp R. E., Teller D. C. // Thromb. Res. – 1995. – V.78. – P. 389–397.
55. Curtis C. G., Brown K. L., Credo R. B., Domanik R. A., Gray P., Stenberg P., Lorand L. // Biochemistry. – 1974. – V.13. – P. 3774–3780.
56. Hornyak T. J., Shafer J. A. // Biochemistry. – 1991. – V.30. – P. 6175–6182.

Определение анамнестического индекса кровоточивости

А. Н. Мамаев[1], А. К. Желябовский[2], П. В. Свирин[3], Л. Р. Сарап[1], К. П. Федоров[1]

[1] - Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России», г. Барнаул

[2]- Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

[3] - Измайловская детская больница, г. Москва

Для оценки патологии зубочелюстной системы практикующие стоматологи традиционно широко применяют методы индексной диагностики. Большинство подобных индексов оценивают состояние зубов и десен и позволяют определить эффективность применяемых методов лечения. Ранее были разработаны методы скринингового исследования, позволяющие заподозрить геморрагическое заболевание [1, 4-6, 8, 9]. Между тем, скрининговое выявление геморрагических заболеваний и синдромов в клинической практике стоматолога разработано неполно, хотя известно, что при гемофилии (и при других геморрагических заболеваниях, таких как болезнь Виллебранда, тромбоцитопении и др.) имеется высокая вероятность развития угрожающих жизни кровотечений во время осуществления стоматологических манипуляций, в том числе и при удалении зуба [2, 3, 7].

Из-за отсутствия доступного показателя, способного обнаружить пациентов, имеющих высокий риск развития кровотечения после удаления зуба, геморрагии после таких стоматологических вмешательств встречаются нередко.

Нами разработан способ определения анамнестического индекса кровоточивости, который позволяет не только обнаружить пациентов с геморрагическими заболеваниями, но и предоставить предварительное суждение о нозологии.

Схематическое изображение последовательности определения анамнестического индекса кровоточивости с вычислением показателя Z представлено на рис. 1.

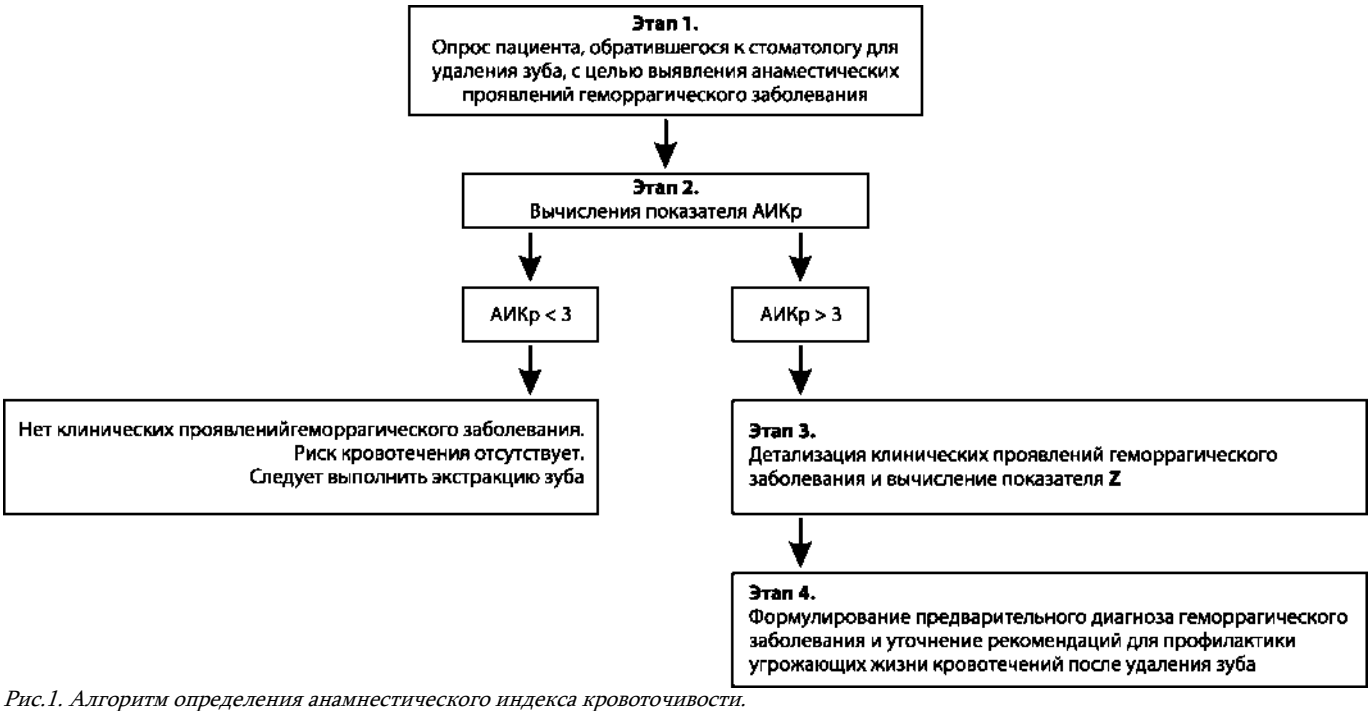


Рис.1. Алгоритм определения анамнестического индекса кровоточивости.

Этап 1. Опрос пациента, обратившегося к стоматологу для удаления зуба, с целью выявления анамнестических проявлений геморрагического заболевания.

На основе опроса врачом-стоматологом пациента с целью выявления геморрагического анамнеза у пациента, которому планируется выполнить удаление зуба, осуществляют учет различных клинических проявлений кровоточивости по таблице 1.

Таблица 1.

Перечень клинических проявлений и их оценка в баллах

Клинические проявления (по данным жалоб и анамнеза)	**Баллы (X)**	**Поле для маркировки**
1. Рецидивы носовых кровотечений	2	
2. Синяки спонтанные и/или при малой травматизации	2	
3. Были кровоизлияния в суставы (гемартрозы) без разрыва связок и без травматического повреждения капсулы сустава	5	
4. Обильные и/или длительные (6 и более дней) месячные без установки ВМК	2	
5. Продолжительные кровотечения после порезов и при других бытовых травмах	2	
6. Наличие при осмотре обширных подкожных гематом (их общая площадь более площади 4 ладоней), появившихся при незначительной травматизации или спонтанно	5	
7. Наличие в анамнезе онкогематологического заболевания (кроме эритремии)	2	
8. Имеется спонтанная кровоточивость из ушей и/или из-под ногтей	-33	
9. Кровоточивость после удаления зуба в течение часа и более	5	
10. Имеется кровоточивость у кровных родственников	1	
11. Железодефицитная анемия или применение препаратов железа в анамнезе	1	
12. Кровотечение во время операций или в послеоперационном периоде	2	
Результаты вычисления АИКр:		

Этап 2. Вычисление показателя анамнестического индекса АИКр

При наличии какого-либо клинического проявления геморрагического синдрома из таблицы 1 заносят результат в поле для маркировки, затем полученные баллы суммируют, а результат суммирования баллов из этой таблицы есть анамнестический индекс кровоточивости (АИКр).

Формула для вычисления АИКр:

$$АИКр = У(X),$$

где X - баллы, полученные по данным опроса больного, из таблицы (рис. 2).

При показателе АИКр менее 3 вероятность геморрагического заболевания мала, поэтому таким пациентам не противопоказаны какие-либо хирургические вмешательства, в том числе удаление зуба. При показателе АИКр, равном 3 и более, вычисляют показатель Z для уточнения варианта геморрагического заболевания.

Этап 3. Детализация клинических проявлений геморрагического заболевания и вычисление показателя Z

Для формирования суждения о варианте геморрагического заболевания вычисляют показатель Z на основе уточнения особенностей тех же 12 клинических проявлений путем их детализации и математической обработки (табл. 2).

Таблица 2.

Определение показателя Z на основе учета детализации клинических проявлений геморрагического заболевания

Клинические проявления (по данным анамнеза)		**R (показатель степени при вычислении показателя Z)**	**Поле для маркировки**
1. Рецидивы носовых кровотечений	наблюдаются с рождения или с детского возраста	1	
	не было ранее, однако носовые геморрагии появились в последнее время	2	
2. Синяки спонтанные и/ или при малой травматизации	наблюдаются с рождения или с детского возраста	1	
	не было ранее, но синяки появились в последнее время	2	
3. Были кровоизлияния в суставы (гемартрозы) без разрыва связок и без травматического повреждения капсулы сустава	у пациентов мужского пола с формированием стойкой утраты функции сустава	4	
	были единичные такие кровоизлияния у пациентов мужского пола без формирования стойкой утраты функции сустава	3	
	у больных женского пола	3	
4. Обильные и/или длительные (6 и более дней) месячные без установки ВМК	с момента появления менструаций	1	
	не было при становлении менструаций, однако они появились лишь в последнее время	2	
5. Продолжительные кровотечения после порезов и при других бытовых травмах		0	
6. Наличие при осмотре обширных подкожных гематом (их общая площадь более площади 4 ладоней). При уточнении характерен спонтанный механизм их возникновения		5	
7. Наличие в анамнезе онкогематологического заболевания (кроме эритремии)		2	
8. Имеется спонтанная кровоточивость из ушей и/или из-под ногтей		0	
9. Кровоточивость после удаления зуба в течение часа и более		0	
10. Имеется кровоточивость у кровных родственников		0	
11. Железодефицитная анемия или применение препаратов железа в анамнезе		0	
12. Кровотечение во время операций или в послеоперационном периоде		0	
Формула:		**$Z=\sum 10^R$**	

Числа из столбца R являются показателями степени, в которую необходимо возвести цифру 10 при положительном ответе на вопрос об особенностях клинических проявлений, описанных в таблице 2. После возведения цифры 10 в степень

Полученные значения разных полей суммируют.

Формула для вычисления показателя Z: $Z=\sum 10^R$, где

R - показатель степени, в которую необходимо возвести цифру 10 при наличии какого- либо из клинических проявлений, перечисленных в опроснике, из таблицы 2.

Результаты определения показателя Z

Показатель Z осуществляет распределение больных по разным группам, поэтому после его вычисления появляется возможность сформировать предварительное суждение о заболевании. В случае если полученный показатель Z окажется в диапазоне 10-30, у больного велика вероятность врожденного геморрагического заболевания с микроциркуляторным типом кровоточивости (тромбоцитопатия или болезнь Виллебранда). При попадании показателя Z в диапазон от 50 до 500 у больного велика вероятность приобретенного геморрагического заболевания с микроциркуляторным типом кровоточивости (чаще тромбоцитопения). Если же показатель Z находится в диапазоне от 500 до 3 000 - у пациента велика вероятность врожденного геморрагического заболевания со смешанным типом кровоточивости (тяжелое течение болезни Виллебранда или иного редкого дефицита коагуляционных факторов). Диапазон от 10 000 до 50 000 этого показателя наблюдается при врожденном геморрагическом заболевании с гематомным типом кровоточивости (гемофилия А или гемофилия В). При значениях показателя Z от 100 000 до 500 000 - у больного велика вероятность приобретенной гемофилии.

Этап 4. Формулирование предварительного суждения о варианте геморрагического заболевания на основе определения показателя Z

Дифференциация варианта геморрагического заболевания чрезвычайно важна, поскольку профилактика геморрагий при выполнении стоматологических манипуляций существенно разнится и зависит от патогенетических особенностей патологии гемостаза. Следует отметить, что выявление геморрагического заболевания при помощи АИКр с учетом показателя Z помогает лишь сформулировать предварительное суждение о варианте геморрагического заболевания, но окончательный диагноз следует формировать на основе лабораторных данных. Использование АИКр и показателя Z позволяет сузить диагностический поиск в специализированной лаборатории гемостаза.

Клиническая апробация АИКр и показателя Z

Клинических проявлений геморрагических заболеваний и синдромов довольно много, однако в разработанном опроснике (табл. 1) представлены наиболее важные, способные выявить геморрагическое заболевание. В процессе апробации АИКр в клинической практике стоматолога было установлено, что этот показатель позволяет лишь выявить геморрагическое заболевание, однако сформировать предварительное суждение о его варианте, используя данный показатель, было нельзя. Это становится возможным лишь после формирования дополнительной шкалы детализации анамнестических данных и вычисления показателя Z на основе тех же 12 пунктов, что и АИКр.

Показатели, оценивающие информативность АИКр и показателя Z

Разработав новый диагностический показатель, было необходимо определить показатели, наиболее эффективно оценивающие качество диагностической процедуры, а именно его чувствительность и специфичность. Для этой цели величину АИКр и показатель Z сравнивали с результатами диагностики геморрагического заболевания в специализированной лаборатории гемостаза.

Известно, что чувствительностью диагностического метода называют его способность выявлять заболевание.

Для оценки чувствительности показателя АИКр использовали учет анамнестических данных при наиболее частых геморрагических заболеваниях (рис. 2).

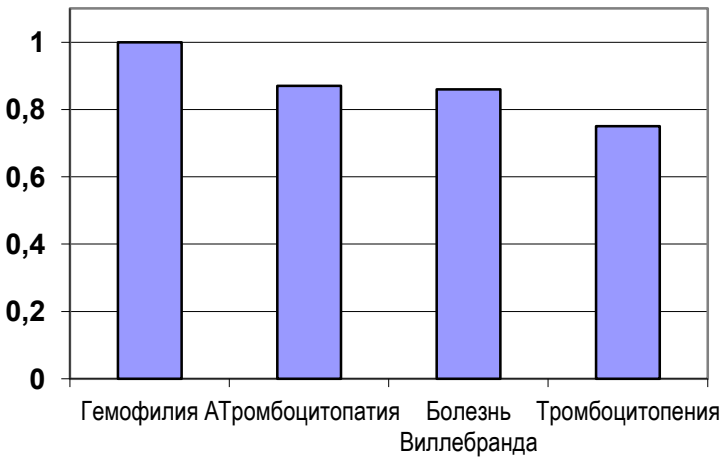


Рис. 2. Чувствительность АИКр при наиболее частых геморрагических заболеваниях

Как видно из рис. 2, при наиболее распространенных геморрагических заболеваниях чувствительность показателя АИКр довольно высока. Наибольшая чувствительность была отмечена при гемофилии, а наименьшая - при тромбоцитопениях. Поскольку геморрагические проявления при тромбоцитопениях наблюдаются лишь при значительном снижении числа тромбоцитов, более низкие значения АИКр при тромбоцитопениях совершенно оправданны и ожидаемы.

Специфичностью диагностического метода называют вероятность появления положительного результата у здоровых, т. е. этот показатель определяет способность метода выдавать ложноположительные результаты. Поэтому специфичность определяет, насколько точно диагностический метод определяет отсутствие заболевания. Специфичность АИКр при наиболее частых геморрагических заболеваниях представлена на рис. 3. Как следует из этого рисунка, при наиболее частых геморрагических диатезах разработанный показатель обладает весьма низкой специфичностью.

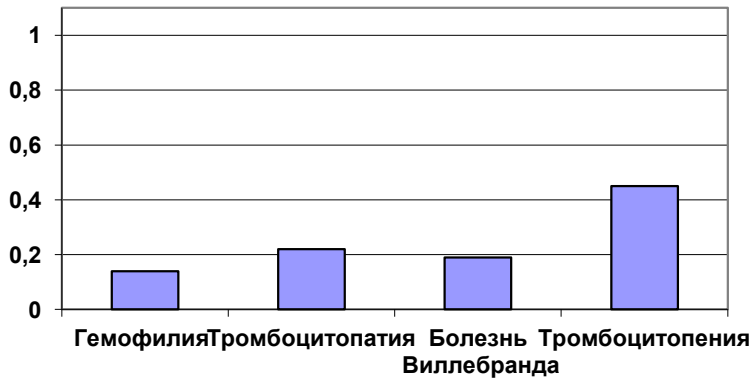


Рис. 3. Результаты определения специфичности анамнестического индекса кровоточивости.

Однако при дополнении АИКр показателем Z, позволяющим сделать предварительное суждение о варианте геморрагического заболевания, значительно повышается специфичность диагностики при гемофилии и тромбоцитопении. Результаты определения чувствительности показателя Z при гемофилии и тромбоцитопении представлены на рис. 4.

Примеры практического использования индекса

Пациентка № 1, возраст - 15 лет. В октябре 2006 года у больной появилась интенсивная зубная боль. Стоматолог не определял индекс Кечке, не спрашивал о каких-либо клинических проявлениях геморрагического заболевания (а у этой пациентки были многочисленные его признаки) и удалил у больной коренной зуб. При этом пациентке не было выполнено каких-либо профилактических мер по предупреждению кровотечения. Поскольку не применялась гемостатическая терапия, после удаления зуба развилось анемизирующее кровотечение, которое продолжалось в течение нескольких суток. Затем на нижней челюсти у пациентки сформировалась огромная гематома, которая через две недели нагноилась. Вскоре появились клинические и лабораторные признаки железодефицитной анемии. Через месяц неэффективного лечения развился остеомиелит нижней челюсти, затем была выполнена операция под общим обезболиванием в отделении челюстно-лицевой хирургии по поводу остеомиелита нижней челюсти. Учитывая наличие геморрагического синдрома на фоне остеомиелита нижней челюсти, больную обследовали в Алтайском филиале ГУ ГНЦ РАМН, где была выявлена болезнь Виллебранда.

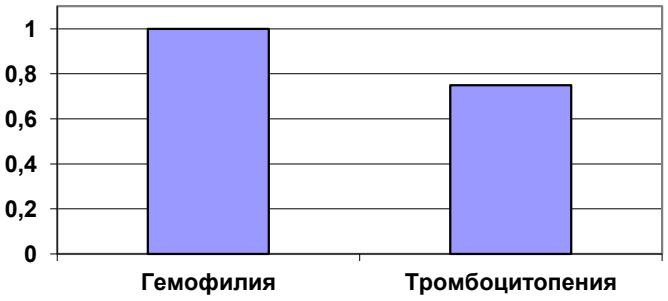


Рис. 4. Специфичность показателя Z при гемофилии и тромбоцитопении

Результаты исследования системы гемостаза у больной № 1 представлены в таблице 3. Результаты исследования периферической крови: НЬ - 95 г/л; РОЭ 41 мм/ч; лейкоциты - $14{,}4 \times 10^9$/л; лейкоцитарная формула: Б-2%, Э-2%, П-10%, С-50%, Л-28%, М-8%.

Для больной также были вычислены показатели АИКр и Z. Результаты представлены в таблицах 4 и 5.

Таким образом, по данным определения показателя АИКр, у больной выявлен геморрагический диатез (АИКр=22; Z=1036). По результатам

Таблица 3.

Исследование системы гемостаза у больной № 1

Методы исследования	Больной	Контроль
АПТВ, с	55	30-40
Протромбиновое, с	15	14-15
Тромбиновое время, с	19	13-17
Анцистроновое, с	17	14-22
Фибриноген, г/л	2,4	2-4
Фактор VIIIC, %	5	70-130
Фактор IX, %	100	70-130
Фактор XI, %	75	70-130
Тромбоциты, $x10^9$/л	232	170-380
Агрегация тромбоцитов с АДФ, %	57	55-65
Агрегация тромбоцитов с адреналином, %	60	55-65
Агрегация тромбоцитов с коллагеном, %	54	55-65
Агрегация тромбоцитов с ристоцетином,%	21	70-80
Фактор Виллебранда, %	14	50-150

Таблица 4.

Результаты вычисления анамнестического индекса кровоточивости у пациентки № 1

Клинические проявления (по данным жалоб и анамнеза)	Баллы	Поле для маркировки
1. Эпизоды носовых кровотечений	2	√
2. Синяки спонтанные и/или при малой травматизации	3	√
3. Были кровоизлияния в суставы (гемартрозы)	5	√
4. Обильные и/или длительные (более 5 дней) месячные	2	√
5. Кровотечение в родах	2	-
6. Наличие при осмотре обширных подкожных гематом (их общая площадь более площади 4 ладоней)	5	-
7. Наличие в анамнезе онкогематологического заболевания (кроме эритремии)	3	-
8. Имеется спонтанная кровоточивость из ушей и/или из-под ногтей	-33	-
9. Кровоточивость после удаления зуба в течение часа и более	5	√
10. Имеется кровоточивость у кровных родственников	2	√
11. Железодефицитная анемия или применение препаратов железа в анамнезе	2	√
12. Кровотечение во время операций или в послеоперационном периоде	2	-
Результаты вычисления АИКр:		22

Таблица 3.

Результаты определения показателя Z у пациентки № 1.

Клинические проявления (по данным анамнеза)		R (показатель степени при вычислении показателя Z)	Поле для маркировки
1. Эпизоды носовых кровотечений	наблюдаются с детского возраста	1	√
	не было ранее, однако носовые геморрагии появились в последнее время	2	
2. Синяки спонтанные и/ или при малой травмати- зации	наблюдаются с детского возраста	1	√
	не было ранее, но синяки появились в последнее время	2	
3. Были кровоизлияния в суставы (гемартрозы)	у пациентов мужского пола с формированием стойкой утраты функции сустава	4	
	были единичные такие кровоизлияния у пациентов мужского пола без формирования стойкой утраты функции сустава	3	
	у больных женского пола	3	√
4. Обильные и/или длительные (6 и более дней) месячные	с момента появления менструаций	1	√
	не было при становлении менструаций, однако они появились лишь в последнее время	2	
5. Кровотечение в родах		0	
6. Наличие при осмотре обширных подкожных гематом (их общая площадь более площади 4 ладоней). При уточнении характерен спонтанный механизм их возникновения		5	
7. Наличие в анамнезе онкогематологического заболевания (кроме эритремии)		2	
8. Имеется спонтанная кровоточивость из ушей и/или из-под ногтей		6	
9. Кровоточивость после удаления зуба в течение часа и более		0	√
10. Имеется кровоточивость у кровных родственников		0	√
11. Железодефицитная анемия или применение препаратов железа в анамнезе		0	√
12. Кровотечение во время операций или в послеоперационном периоде		0	
Формула:		$\mathbf{Z=\sum 10^R}$	1036

определения анамнестического индекса кровоточивости и показателя Z у пациентки было выявлено врожденное геморрагическое заболевание со смешанным типом кровоточивости. Наиболее частым вариантом врожденного геморрагического заболевания со смешанным типом кровоточивости, является болезнь Виллебранда.

В случае если бы врач-стоматолог использовал предлагаемый индекс, у больной было бы своевременно обнаружено геморрагическое заболевание со смешанным типом кровоточивости и были бы использованы рекомендации гематолога по применению гемостатической

терапии и ведению таких пациентов. Это позволило бы избежать многочисленных тяжелых осложнений удаления зуба у этой больной - кровотечения, гематомы, инфицирования гематомы, остеомиелита нижней челюсти, хирургического вмешательства. Кроме того, финансовые затраты на лечение были бы значительно меньше.

Заключение

Новый методический подход к идентификации геморрагических заболеваний позволяет быстро обнаружить пациентов, у которых высока вероятность развития кровотечений после удаления зубов и других инвазивных вмешательств.

Список литературы

1. Белова И.И. Разработка скрининга для выявления геморрагических диатезов и железодефицитных анемий. // Автореф. дисс. канд. мед. наук, 2004. - 26 с.

2. Bolton-Maggs P.H.B., Chalmers E.A., Collins P.W. et al.. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. Br. J. Haematol., 2006; 135: P. 603-33.

3. Coller B.S., Schneiderman P.I. Clinical evaluation of hemorrhagic disorders: the bleeding history and differential diagnosis of purpura. In: Hoffman R., Benz E.J., Shattil J.S., Furie B., Cohen J.C., Silberstein L.E., McGlave P., eds.. Hematology. Basic Principles and Practice. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone 2007.

4. Edlund M., Blomback M., von Schoultz B., Andersson O. On the value of menorrhagia as a predictor for coagulation disorders. Am. J. Hematol. 1996; 53: P. 234-238

5. Goodeve A., Eikenboom J., Castaman G. et al. Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). // Blood 2007; 109: 112-21.

6. Leung L.L.K. Perioperative evaluation of bleeding diathesis. // Hematology Am Soc Hematol. Educ. Program 2006; P. 457-61.

7. Nosek-Cenkowska B., Cheang M.S., Pizzi N.J. et. al. Bleeding /bruising symptomatology in children with and without bleeding disorders. Thromb Haemost 1991; 65: P. 237-41.

8. Rodeghiero F., Castaman G., Tosetto A. et al. The discriminant power of bleeding history for the diagnosis of von Willebrand disease type 1: an international, multicenter study. J. Thromb Haemost 2005; 3: P. 2619-2626.

9. Sadler J.E., Rodeghiero F. Provisional criteria for the diagnosis of VWD type 1. J. Thromb. Haemost., 2005; 3: 775-777.

Резюме

Из-за отсутствия общедоступного показателя, способного выявить пациентов, имеющих высокий риск развития кровотечения после удаления зуба, геморрагии после стоматологических вмешательств встречаются нередко. Разработанный индекс учитывает геморрагические проявления, что позволяет выявить пациентов, у которых без применения гемостатической терапии после удаления зубов возникнут кровотечения (в том числе угрожающие жизни). Кроме того, оригинальной особенностью предлагаемого индекса является вычисление уточняющего показателя Z, который позволяет сделать предварительное суждение о варианте геморрагического заболевания и вовремя привлечь гематолога для дачи рекомендаций о вариантах гемостатической терапии с целью профилактики кровотечений после удаления зуба.

Особенности преаналитического этапа исследования системы гемостаза

А. Н. Мамаев[1], А. Ж. Гильманов[2], Т. В. Вавилова[3], А. П. Момот[1]

[1] - Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр Минздравсоцразвития РФ», Барнаул

[2] - ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

[3] - ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. акад. И. П. Павлова Минздравсоцразвития РФ», г. Санкт-Петербург

В настоящее время для исследования системы гемостаза разработаны и получили широкое распространение высокоточные приборы и надежные лабораторные методы, которые позволяют быстро и эффективно выявить нарушения, обусловливающие кровоточивость или тромбозы, однако их воспроизводимость и точность значимо снижаются при несоблюдении правил и условий преаналитического этапа исследования. Поэтому взятие образцов крови, транспортировку и их подготовку для исследования системы гемостаза следует рассматривать как важнейшие этапы получения корректных результатов, которым должно быть уделено немало внимания в любой лаборатории, выполняющей исследование функции тромбоцитов, коагуляции и фибринолиза.

Подготовка пациента

Кровь для исследования системы гемостаза забирают утром натощак, по прошествии не менее 8 часов после последнего приема пищи. Важно, чтобы взятие венозной крови проводилось в спокойном состоянии, поэтому перед венепункцией пациенту рекомендуется посидеть в течение 20-30 мин. Для получения надежных результатов при определении показателей тромбоцитарного гемостаза за день до сдачи анализа пациенту следует избегать стрессов, физических нагрузок, смены режима дня и изменений в питании, приема алкоголя. Особенно тщательно необходимо соблюдать эти условия при исследовании маркеров активации тромбоцитов (β-тромбоглобулин, тромбоцитарный фактор 4).

Врачу необходимо знать о лекарственных препаратах, которые назначены и вводятся пациенту, поскольку ряд медикаментов способен нарушить агрегацию тромбоцитов или вызвать изменение параметров коагуляции. В подобных ситуациях часто приходится учитывать лишь антикоагулянтный или антитромбоцитарный эффекты применяемых лекарственных препаратов, поскольку выявить многие нарушения гемостаза на фоне применения антикоагулянтов или антиагрегантов невозможно.

У пациентов в реанимационном отделении нельзя брать кровь из подключичного катетера, поскольку это наиболее частая причина попадания гепарина в образец крови. У пациентов в отделении гемодиализа также нельзя осуществлять забор крови из артериовенозной фистулы. Однако при некоторых критических состояниях взятие крови в пробирку или вакутейнер из кубитальной вены бывает невозможно из-за снижения давления. В подобных ситуациях кровь для исследования допустимо взять из подключичного катетера, но при этом следует учитывать, что перечень выполняемых методик будет существенно ограничен вследствие возможного наличия гепарина в образце.

Антикоагулянты

Цитрат натрия связывает ионы кальция и останавливает реакции свертывания. В качестве

антикоагулянта для определения большинства показателей коагуляционного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза следует использовать 0,109 М раствор лимоннокислого натрия, который готовят растворением 3,2 грамма $Na_3C_6H_5O_7$ x $2H_2O$ в 100 мл дистиллированной воды. Этот раствор следует хранить при температуре +2...+8^0 С не более 48 часов. При несоблюдении температурного режима в таком растворе развивается микрофлора, вследствие чего концентрация цитрата натрия уменьшается, и появляются посторонние примеси, обладающие потенциальной способностью стимулировать тромбоциты и активировать коагуляционные реакции. При наличии рекомендации фирм-производителей реагентов допустимо применение 0,129 М (3,8%) цитрата натрия, однако следует учитывать, что разные концентрации стабилизатора по-разному влияют на ряд показателей коагуляции, в том числе и международное нормализованное отношение (МНО). Такое влияние особенно заметно при сравнении реагентов разных производителей. Как было подчеркнуто на специальной секции ISTH 2009, проходившей в Бостоне, обе концентрации лимоннокислого натрия (0,109 М и 0,129 М) возможно использовать при исследовании агрегационной функции тромбоцитов.

ЭДТА также останавливает коагуляционные реакции, связывая кальций. Соли этилендиаминтетраацетата используют для стабилизации образцов, предназначенных для определения клеточного состава периферической крови на гематологических анализаторах. K_2-, K_3- и Na_2 - соли ЭДТА в концентрации 1,2-2,0 мг/мл применяют также при дальнейшем исследовании методами ИФА и ПЦР. Недопустимо использование ЭДТА для исследования коагуляции и функциональной способности тромбоцитов.

Гепарин в комплексе с антитромбином необратимо связывает многие активированные факторы коагуляции. Этот антикоагулянт традиционно применяют в ИФА. Как правило, для стабилизации крови необходимо от 12 до 30 Ед./мл натриевой, калиевой или литиевой соли нефракционированного гепарина. При получении плазмы для исследования ее коагуляционных свойств и функциональной способности тромбоцитов этот антикоагулянт применять нельзя.

Пробирки

При взятии и подготовке образцов крови для исследования гемостаза должны применяться меры для предупреждения активации тромбоцитов и коагуляционных реакций. Поэтому для образцов крови нельзя использовать обычные стеклянные пробирки, поскольку стекло активирует коагуляцию и сорбирует коагуляционные факторы. В течение многих лет для предупреждения этих эффектов использовалось силиконирование пробирок, однако в последнее время появились сведения о недостаточной способности некоторых силиконов предупреждать активацию тромбоцитов.

Кроме того, эта процедура трудно стандартизуется и занимает дополнительное время. Как альтернативу силиконированию следует использовать пластиковые пробирки, однако различные сорта пластика также разнятся по способности активировать коагуляционные реакции.

Хорошие результаты дает использование вакуумных систем для взятия крови, содержащих забуференный 3,2%-ный раствор цитрата натрия (буферизация чаще достигается добавкой лимонной кислоты). Цветовая кодировка по ISO/DIS 6710 для вакуумных систем, содержащих цитрат натрия, предусматривает светло-голубой или зеленый цвет колпачков; для пробирок с ЭДТА - лиловый или красный; для пробирок с гепарином - зеленый или оранжевый. Имеются данные о хороших результатах использования специальных CTAD-систем (со стабилизатором, включающим цитрат натрия, аденозин, теофилин и дипиридамол) для определения β-тромбоглобулина, тромбоцитарного фактора 4, PAI-1, контроля гепаринотерапии по АЧТВ(АПТВ) или анти-Ха, определения МНО, однако этот стабилизатор непригоден для исследования функциональной способности тромбоцитов.

Оптимальное соотношение цитрат/кровь

Поскольку большинство факторов свертывающей системы содержится в плазме, но не в эритроцитах, необходимое количество антикоагулянта зависит от показателя гематокрита у пациента. Для стабилизации образцов крови при значении гематокрита в нормальном диапазоне (от 35 до 50%) принято смешивать один объем 3,2%-ного раствора цитрата натрия с девятью объемами крови. При отклонениях гематокрита от указанных величин следует изменить это соотношение в соответствии с формулой Ingram:

$$X=V \times (100-HCT)/(595-HCT),$$

где:

X - добавляемый объем 3,2%-ного цитрата, мл;

V - конечный объем пробирки для крови, мл;

HCT - показатель гематокрита у пациента, %.

В табл. 1 приведены объемы 3,2%-ного раствора цитрата натрия, которые следует внести в пробирку перед взятием крови, для получения 10 мл цитратной крови у пациентов с разным значением гематокрита.

Таблица 1.

Объем 3,2%-ного раствора цитрата натрия, необходимый для стабилизации крови с учетом значения гематокрита при конечном объеме цитратной крови 10,0 мл

Гематокрит, %	Объем цитрата натрия, мл	Гематокрит, %	Объем цитрата натрия, мл	Гематокрит, %	Объем цитрата натрия, мл
12	1,51	30	1,24	63	0,70
13	1,49	31	1,22	64	0,68
14	1,48	32	1,21	65	0,66
15	1,47	33	1,19	66	0,64
16	1,45	34	1,18	67	0,63
17	1,44	от 35 до 50	1,00	68	0,61
18	1,42	51	0,90	69	0,59
19	1,41	52	0,88	70	0,57
20	1,39	53	0,87	71	0,55
21	1,38	54	0,85	72	0,54
22	1,36	55	0,83	73	0,52
23	1,35	56	0,82	74	0,50
24	1,33	57	0,80	75	0,48
25	1,32	58	0,78	76	0,46
26	1,30	59	0,76	77	0,44
27	1,29	60	0,75	78	0,43
28	1,27	61	0,73	79	0,41
29	1,25	62	0,71	80	0,39

Техника венепункции

Игла и пробирка. Для получения образцов венозной крови необходимо привлекать наиболее опытных и квалифицированных процедурных медсестер, способных в течение нескольких секунд пунктировать вену с наименьшей травматичностью и болезненностью для пациента. Медсестре необходимо внимательно ознакомиться с направлением на исследование, выбрать пробирки, определить корректную последовательность их наполнения, промаркировать их и указать время взятия образца крови. В некоторых специализированных лабораториях (в том числе в лаборатории гемостаза Алтайского гематологического центра) на время взятия крови в помощь процедурной медсестре направляют фельдшера-лаборанта (лабораторного техника), что позволяет значительно увеличить пропускную способность процедурного кабинета, снизить вероятность ошибок дозирования цитрата при сдвигах гематокрита и неточностей маркировки проб.

Кровь предпочтительно брать из кубитальной вены, место прокола предварительно обрабатывают 70^0-ным спиртом и дают высохнуть. Допустимо лишь кратковременное (не более 60 с) наложение жгута на плечо, поскольку при венозном стазе происходит активация фибринолиза; после введения иглы в вену жгут тотчас же расслабляют. По опыту работы лаборатории гемостаза Алтайского гематологического центра, наилучшие результаты (с учетом травматичности, болезненности, универсальности, скорости наполнения пробирок) дает использование иглы с калибром 20-21G. Желательно не брать для исследования гемостаза первые 3-4 мл крови, поэтому их набирают в пробирку без антикоагулянта и используют, например, для получения сыворотки (биохимические, иммунологические тесты и др.). Далее пластиковые или силиконированные пробирки с предварительно добавленным цитратом наполняют кровью из иглы самотеком, сразу же закрывают и перемешивают путем 4-6-кратного переворачивания или вращения (без встряхивания). В связи с использованием игл увеличенного диаметра после венепункции в большинстве ситуаций руку пациента бывает необходимо перебинтовать 2-4 оборотами бинта, приложив к месту прокола марлевый тампон с 70^0-ным спиртом.

Наполнять пробирки с цитратом при помощи шприцов для инъекций нельзя, поскольку при насасывании крови и ее последующем переносе в пробирку происходит активация тромбоцитов и коагуляционных факторов вследствие контакта крови с пластиком шприца и дополнительного вспенивания, обусловленного турбулентным движением крови в шприце.

Специализированные вакуумные системы. В настоящее время практически во всем мире стандартом для клинических лабораторий, в которых исследуются показатели гемостаза, является использование одноразовых вакуумных систем (вакутейнеров и др.), содержащих 3,2%-ным раствор цитрата натрия. Их использование в значительной степени ускоряет и стандартизирует процедуру взятия крови и позволяет существенно снизить разброс результатов. Если кровь для исследования гемостаза берется через катетеры или системы с иглой-бабочкой, необходимо, чтобы была обеспечена полная герметичность системы и кровь предварительно заполнила все «мертвые объемы» - просвет самого катетера, иглы и переходника, иначе возможна частичная потеря вакуума и неполное заполнение пробирки. Для предотвращения этого, а также попадания фрагментов поврежденных тканей кровь для анализа гемостаза не рекомендуется брать в первую вакуумную пробирку.

В условиях выраженного сгущения крови (полицитемия, дегидратация и др.) стандартное количество цитрата в вакуумных системах оказывается избыточным для уменьшенного объема плазмы. При использовании вакуумных пробирок и уровне гематокрита у пациента выше 50% часть раствора цитрата из пробирки следует предварительно отобрать (например, при помощи инсулинового шприца). Подлежащий удалению из стандартной вакуумной пробирки объем цитрата можно определить по формуле:

$$Y = (V/10) \times (9 \times HCT-405)/(595-HCT),$$

где:

Y - подлежащий удалению объем цитрата, мл;

V - конечный объем пробирки для крови, мл;

HCT - показатель гематокрита у пациента, %.

При низком (< 35 %) значении гематокрита, напротив, следует предварительно добавить дополнительное количество цитрата в пробирку, подсчитав его по той же формуле (с отбрасыванием знака «минус»).

Однако корригировать объем цитрата в вакуумных пробирках без нарушения вакуума весьма сложно, и стандартные инструкции производителей вакуумных систем подобной возможности не предусматривают. В связи с этим, поскольку грубые сдвиги гематокрита в диагностической практике встречаются не так уж и часто, при их наличии бывает проще взять кровь с помощью иглы

не в вакуумную, а в обычную пластиковую пробирку, предварительно добавив в нее цитрат в соответствии с представленной выше таблицей.

Транспортировка и промежуточный контроль образцов

Следует до минимума сократить интервал времени между взятием образца крови из вены и центрифугированием. До центрифугирования кровь должна находиться при комнатной температуре (+18...+24° С). Недопустимо хранить образцы крови в холодильнике и, тем более, их замораживать. При охлаждении образцов до 12° С и ниже начинается так называемая холодовая агрегация тромбоцитов. Маркированные образцы транспортируются в лабораторию в специальном контейнере. В случае если образцы крови необходимо отправить в другое лечебное учреждение, их нужно транспортировать в термоконтейнере, но без хладагентов. В зимнее время термоконтейнер не позволит образцам охладиться до 12° С, а в летнее время - перегреться. Направление на исследование или иную медицинскую документацию не следует помещать в контейнер с образцами.

Перед центрифугированием необходимо визуально проверить полученные для исследования пробы крови (маркировка, наличие гемолиза, липемии и сгустков). Образцы, содержащие сгустки, и с гемолизом бракуются. Для визуального выявления «подсвертывания» необходимо медленно наклонить пробирку с образцом: при правильном взятии и обработке крови происходит равномерное ее перетекание, соответствующее углу наклона пробирки, и на ее стенках не остается багровых образований овальной или иной формы.

Получение плазмы

Богатая тромбоцитами плазма. Цитратная плазма, богатая тромбоцитами (PRP - platelet rich plasma), получается при центрифугировании стабилизированной цитратом крови при 150g в течение 5 мин без охлаждения (лучше при 21° С). Прекращение вращения ротора центрифуги должно быть плавным, чтобы не допустить перемешивания надосадочной жидкости и осадка (в современных центрифугах необходимо отключить режим торможения для получения PRP). Сразу же после центрифугирования богатую тромбоцитами плазму переносят в пластиковые пробирки пипетками со сменными пластиковыми наконечниками и используют для исследования агрегационной функции тромбоцитов, которое следует выполнить в течение 2 часов после взятия крови. Замораживание образцов богатой тромбоцитами плазмы недопустимо.

Бедная тромбоцитами плазма. Цитратная плазма, бедная тромбоцитами (PPP - platelet poor plasma), обычно просто называется плазмой. В ней еще содержатся тромбоциты, но в малых количествах. Для ее получения стабилизированную кровь или плазму, богатую тромбоцитами, центрифугируют при 1500-1900 g в течение 15 мин без охлаждения, а затем пипетками с пластиковыми наконечниками надосадочную жидкость переносят в пластиковые пробирки.

Подобный режим центрифугирования является достаточным для большинства коагуляционных тестов. Однако в ряде ситуаций, например, при определении волчаночного антикоагулянта, проведении dRVV-теста или при необходимости замораживания и хранения материала, требуется бестромбоцитная плазма (PFP - platelet free plasma). Ее получают путем повторного центрифугирования плазмы, бедной тромбоцитами, при 1700-1900 g в течение 15 мин. Следует с настороженностью относиться к рекомендациям центрифугировать образцы крови с ускорением более 2500 g и охлаждением, поскольку при увеличении центробежной силы и снижении температуры возможно разрушение клеток крови.

Хранение образцов плазмы

Желательно, чтобы функция как тромбоцитарного, так и коагуляционного звеньев системы гемостаза была исследована в течение 2 часов после взятия крови у пациента. В большинстве ситуаций это обеспечить довольно сложно, поэтому при условии быстрого отделения плазмы от клеточных элементов допускается исследование коагуляционных показателей в течение 4 час. Редко выполняемые тесты коагуляционного гемостаза допустимо проводить после накопления замороженных образцов. Хранение плазмы при температуре -20° С возможно до 4 нед., лучшие результаты получаются в промышленных морозильных установках при -40.-70° С. Следует помнить, что большинство бытовых холодильников не способно удерживать температуру -20° С, поэтому хранить образцы плазмы в морозильных камерах бытовых холодильников не рекомендуется. Перед исследованием плазму необходимо быстро разморозить на водяной бане при +37° С и хорошо перемешать.

Таким образом, перечень правил, соблюдение которых необходимо для исследования системы гемостаза, обширен, однако соблюдение этих многочисленных правил и требований является гарантом получения корректных результатов при выявлении причин геморрагического и поли- тромботического синдромов, а также осуществлении контроля лечения у таких пациентов.

Список литературы

1. Adcock D.M., Kressin D.C., Marlar R.A. Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. // Am. J. Clin. Pathol. - 1997. - 107. -P. 105-110.

2. Biron-Andreani C., Mallol C., Seguret F., Schved J-F. Plastic versus siliconized glass tubes: Evaluation in current laboratory practice. // Thromb. Haemost. - 2000. 83. - P.801.

3. Duncan E.M., Casey C.R., Duncan B.M., Lloyd J.V. Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the international normalized ratio and the internal sensitivity index of thromboplastin. // Thromb. Haemost. - 1994. - 72. - P.84-88.

4. Jensen R., Fritsma G.A. Preanalytical variables in the coagulation laboratory. // Adv. Med. Lab. Professionals. - 2000. - P. 90-94.

5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation, ed.2. Approved Guideline, NCCLS Document H21-A2. // Villanova, NCCLS, - 1991.

6. Pai SH, Michalaros K. Effect of sample volume on coagulation tests. // Lab Med. 1990. - 6. - P. 371-373.

7. Polack B., Barro C., Pernod G. et al. Impact of the blood collection tube on the activation of coagulation. // Thromb. Haemost. - 1997. - 77. - P. 217-218.

8. Ray M.J.: An artefact related to the ratio of sample volume to the blood collection vial size which effects the APTTs of specimens taken to monitor heparin therapy. // Thromb. Haemost. - 1991. - 66. - P. 387-388.

9. Siegel J.E., Bernard D.W., Swami V.K., Sazama K. Monitoring heparin therapy: APTT results from partial-fulldraw tubes. // Am. J. Clin. Pathol. - 1998. - 110. - P. 184-187.

Siegel J.E., Swami V.K., Glenn P. et al. Effect (or lack of it) of severe anemia on PT and aPTT results. // Am. J. Clin. Pathol. - 998 -110. - P. 106-110.

10. Thompson J.M. Blood collection and preparation / Preanalytical variation; in Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F (eds): ECAT Assay Procedures. / Dordrecht, Kluwer. - 1992. - P. 13-20.

11. van den Besselaar A.M.H.P., Chantarangkul V., Tripodi A. A comparison of two sodium citrate concentrations in two evacuated blood collection systems for prothrombin time and ISI determination. // Thromb. Haemost. - 2000. - 84. - P. 664-667.

12. Van Den Besselaar AMPH: Effect of evacuated blood collection tube on thromboplastins calibration. // Thromb. Haemost. - 1998. - 79. - P. 1062-1063.

13. Walker I.D. / Blood collection and sample preparation: Pre-analytical variations; in Jespersen J., Bertina R.M., Haverkate F. / Laboratory Techniques in Thrombosis: A Manual, 2nd revised edition of ECAT assay procedures. Dordrecht, Kluwer, 1999. - P. 21-28.

14. Polack B., Schved J.-F., Boneu B. Preanalytical Recommendations of the'Groupe d'Etude sur l'Hemostase et la Thrombose' (GEHT) for Venous Blood Testing in Hemostasis Laboratories // Haemostasis. - 2001. - 31. - P. 61-68.

УДК 616.24-002:612.115

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ТРОМБИНЕМИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Н.В. Бедило[1,2], Н.А. Воробьева[1,2,3]

ГБОУ ВПО Северный государственный медицинский университет[1]; ГБУЗ АО Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич[2]; ФБГУ Северный филиал Гематологического научного центра Министерства здравоохранения Российской Федерации[3]; Архангельск, Россия

Исследовали содержание маркеров тромбинемии — Д-димера, растворимых фибрин-мономерных комплексов, фибриногена, активность ингибитора активатора плазминогена 1 типа, время самосборки фибрина у 38 пациентов с внебольничной пневмонией. Установлено, что на момент госпитализации все показатели были повышены, что свидетельствовало о гиперкоагуляции, сопровождающей воспаление легочной ткани. Определено, что измеренные в начале заболевания значения Д-димера и тех-полимер-теста наиболее информативны для оценки гиперкоагуляции у пациентов с замедленным разрешением пневмонии и могут быть использованы для прогнозирования течения заболевания. Тех-полимер-тест может быть использован как информативный маркер мониторинга гипертромбинемии при остром воспалительном процессе.

Ключевые слова: *тромбинемия - Д-димер — растворимые фибрин-мономерные комплексы — тех-полимер-тест — фибриноген — активность ингибитора активатора плазминогена 1 типа — внебольничная пневмония.*

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THROMBINEMIA ASSESSMENT METHODS IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

N.V. Bedilo[1,2], N. A. Vorobyeva[1,2,3]

Northern State Medical University[1]; First City Clinical Hospital named after E. E. Volosevich[2]; Northern Branch of Hematological Research Center, Health Ministry of Russian Federation[3]; Arkhangelsk, Russia

We examined content of thrombinemia markers — D-dimer, soluble fibrin monomer complex, fibrinogen, activity of plasminogen activator inhibitor type 1, time of fibrin self-assembly in 38 patients with community-acquired pneumonia. On admission to hospital all parameters were increased that testified about hypercoagulation accompanying of lung tissue inflammation. Measured in early disease D-dimer and tech- polymer-test values are most informative for hypercoagulation assessment in patients with slow recovery of pneumonia and can be used for prognosis of disease outcome. Tech-polymer-test can be used as important marker for monitoring of hyperthrombinemia at acute inflammation.

Keywords; ***thrombinemia - D-dimer — soluble fibrin monomer complexes — tech-polymer-test — fibrinogen — activity of plasminogen activator inhibitor type 1 — community-acquired pneumonia.***

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на постоянный процесс внедрения в клиническую практику новейших антибактериальных препаратов, летальность при внебольничной пневмонии остается высокой. Так, по отдельным данным, в 2006 году в России смертность от пневмонии среди взрослых пациентов составляла 20 человек на 100000 населения, достигая в отдельных ре-

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

Бедило Наталья Витальевна - врач клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ АО ПГКБ им. Е. Е. Волосевич, м.н.с. ЦНИ/1 СГМУ.

Адрес: 163045, Россия, Архангельск, ул. Суворова, д. 1.

E-mail: natalya.bedilo@yandex.ru.

Статья поступила 2.12.2012, принята к печати 29.03.2013.

гионах (Иркутская область) показателя 51 на 100000; при этом госпитальная летальность при внебольничной пневмонии составляла 8-14%, а летальность при тяжелой, осложненной пневмонии, требующей реанимационных мероприятий, достигала 40-50% [1].

Поэтому все большее внимание клиницистов привлекают лабораторные методы, позволяющие уже на ранних этапах диагностики предсказать течение пневмонии и оптимизировать лечение. Так, в последнее десятилетие получены новые данные о роли легких в коагуляционном каскаде, связи процессов активации гемостаза с характером и интенсивностью воспаления легочной ткани при таких патологических процессах как пневмония и острый респираторный дистресс-синдром.

Установлено, что влиять на состояние системы гемостаза могут активные формы лейкоцитов с экспрессированными на их поверхности молекулами адгезии, лизосомальные ферменты нейтрофилов, продукты перекисного окисления липидов, иммунные комплексы, аутоантитела, активные компоненты системы комплемента, медиаторы воспаления (серотонин, гистамин, простагландины, цитокины) [2]. Известно, что воздействие провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8) и липополисахаридов бактериальных мембран на моноциты приводит к увеличению продукции тканевого фактора макрофагами и эндотелием и, как следствие, к активации внутрисосудистого свертывания, конечным итогом которого является образование тромбина, преобразующего фибриноген в фибрин [3,4]. Фибрин, также как и тромбин, способен стимулировать моноциты к выработке интерлейкинов IL-6 и IL- 8, тем самым фактически замыкая порочный круг [6]. Доказано, что у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом значительно увеличена концентрация тканевого фактора и фактора Vila в бронхо-альвеолярном лаваже на фоне снижения фибринолитической активности и роста активности ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) [5, 6]. Последний в комплексе с активатором плазминогена способен ингибировать миграцию нейтрофилов и макрофагов в зону воспаления [6].

Следует отметить значимое гиперкоагуляционное действие липополисахаридов — провоспалительного антигена грамнегативных бактерий. В последнее время появились подобные сведения и о роли грампозитивных возбудителей, которые в составе своих мембран имеют липотейхоевую кислоту, сходную по своим свойствам с липополисахаридами [7]. В экспериментальных исследованиях было установлено, что инстилляция в бронхи липополисахаридов приводит к дозозависимому росту числа нейтрофилов, уровней тканевого фактора и комплекса тромбин-антитромбин в бронхо-альвеолярном лаваже, отражающим активацию внутрилегочной коагуляции [8, 9]. Как известно, конечным продуктом коагуляционного каскада является фибрин. При локальном воспалении ткани легкого образующийся фибрин препятствует распространению инфильтрата на непораженную ткань [10]. Рост воспалительного инфильтрата отчасти обеспечивается связью фибрина с рецепторами MAC-1 на лейкоцитах [11].

Образование фибрина происходит при воздействии тромбина на фибриноген. Многочисленными исследованиями показано, что первоначально тромбин отщепляет от молекулы фибриногена два пептида А, образуя дез-А-мономеры фибрина, в дальнейшем отщепляются два пептида В, и возникают дез-АВ-мономеры или полные мономеры фибрина [12-15]. Оставшаяся часть молекулы фибриногена получила название фибрин- мономер, который, соединяясь с другими растворимыми фибрин-мономерами (РФМК), образует фибрин-полимер. Важно отметить, что тромб из такого неполноценного фибрина нестоек, так как легко растворяется плазмином, а в условиях *in vitro* — раствором мочевины или уксусной кислоты. Полноценный фибрин (нерастворимый) формируется после его взаимодействия с активным XIII фактором свертывания. После образования фибрина начинается воздействие на него компонентов фибринолитической системы, вследствие чего он разрушается с образованием Д-димеров и других продуктов деградации фибрина. Таким образом, РФМК являются предшественниками фибрина, а Д-димеры — продуктами распада фибрина в результате активации фибринолиза. При этом следует отметить, что активация фибринолиза* как правило, происходит в условиях гипертромбинемии.

В настоящее время концентрацию РФМК определяют в ортофенантролиновом тесте по времени образования хлопьевидного осадка [16]. Тест достаточно простой, быстрый, проводимый при комнатной температуре, выполним в мануальной методике. Время выполнения исследования — 2-3 минуты. Тест учитывает концентрацию уже

образованных в плазме РФМК. Наряду с этим существует метод определения времени самосборки фибрин-мономера и превращения его в стабильный фибрин [17]. В основу метода положена коагулометрическая регистрация тромбинового времени свертывания в присутствии фиксированной концентрации ингибитора самосборки фибрин-мономера. Результатом теста является отношение времени образования сгустка в исследуемой плазме ко времени образования сгустка в контрольной плазме. Таким образом, чем выше уровень тромбинемии и содержание РФМК, тем быстрее произойдет образование сгустка — гиперкоагуляционное состояние. Удлинение времени характерно для врожденных или приобретенных дисфи- бриногенемий, либо для тормозящего действия ингибиторов стабилизации фибрина (Д-димер, парапротеины) [17]. Апробация данного метода у пациентов с типичными нарушениями гемокоагуляции (249 больных с различными видами кровоточивости) показала, что его результаты имеют самостоятельное значение в сравнении с известными «глобальными» скрининговыми тестами — активированным парциальным тромбопластиновым тестом (АПТВ), протромбиновым и тромбиновым временем. Авторами было продемонстрировано, что данный метод, в отличие от всех остальных, позволяет определять дисфибриногенемии и блоки на конечном этапе свертывания [18]. В настоящее время наборы реактивов, используемые в данном методе, выпускаются ООО «Технология-стандарт» под названием «Тех-Полимер-Тест» (ТПТ).

Целью нашего исследования явилась оценка отдельных лабораторных методов мониторинга тромбинемии у пациентов с диагнозом внеболыгичной пневмонии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе 2-го терапевтического отделения и отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) ГБУЗ АО ПГКБ им. Е.Е. Волосевич г. Архангельска в период с декабря 2011 по июнь 2012 года проведено проспективное клинико-лабораторное исследование; лабораторная часть выполнена на базе лаборатории гемостаза и атеротромбоза ГБУЗ АО ПГКБ им. Е.Е. Волосевич г. Архангельска и ЦНИЛ СГМУ.

Критерии включения в исследование: клинически и рентгенологически подтвержденный диагноз «внебольничная пневмония», возраст пациентов от 18 лет и старше, наличие добровольного информированного согласия на исследование.

Критерии исключения: онкопатология, декомпенсированный сахарный диабет, хроническая патология почек, отказ от участия в исследовании.

Протокол исследования одобрен локальным Этическим комитетом СГМУ (протокол №09 от 16.11.2011).

Обследовано 38 пациентов (19 мужчин и 19 женщин) с диагнозом внебольничной пневмонии, госпитализированных в ПГКБ г. Архангельска, средний возраст пациентов составил 53,9± 18,2 лет. Лабораторные исследования проводили на момент поступления пациента в стационар (до начала проведения антикоагулянтной терапии) — первая точка и перед выпиской пациента из стационара — вторая точка.

В качестве лабораторных маркеров тромбинемии использовали уровень Д-димера, РФМК, время самосборки фибрина, измеряли концентрацию фибриногена и активность PAI-1. Содержание Д-димера и фибриногена определяли реактивами Diagnostica Stago на автоматическом коагулометре «StaCompact» (Германия), активность PAI-1 — реактивом Biomedica (Австрия) на ИФА-анализаторе «Anthos» (Швеция), РФМК и время самосборки фибрина — реактивами ООО «Технология-Стандарт» (Россия).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS-13.0. Из-за небольшого объема выборки показатели представлены в виде медианы и квартилей. Сравнение зависимых групп по количественным признакам проводили по критерию знаковых рангов Вилкоксона. Для сравнения независимых групп применяли критерий Манна-Уитни. Использовали коэффициент корреляции Спирмена. Статистическая значимость различий устанавливалась при $p<0,05$. Определялась оценка риска длительного и тяжелого течения заболевания в зависимости от уровня маркеров тромбинемии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 7 из 38 пациентов пневмония имела тяжелое течение; 6 пациентам потребовалась госпитализация в ОРИТ, из них 3 пациента скончались на фоне прогрессирования полиорганной недостаточности и

септического шока. Благоприятный исход наблюдали у 35 пациентов, из них 14 пациентов были выписаны с полным выздоровлением, 21 — с остаточными явлениями в виде усиления легочного рисунка, значимым уменьшением размеров инфильтрата, плевральными наложениями.

Анализ показателей тромбинемии у пациентов на фоне внебольничной пневмонии показал, что на момент госпитализации у большинства (97%) пациентов были отмечены повышенные уровни РФМК (Me=25,0 [17,0;28,0]) и фибриногена (Me = 6,63 [5,18;8,14]) в отличие от референтных показателей (p = 0,001). У 33 больных результаты ТПТ были ниже нижней границы референтного интервала 0,81 (Me=0,55), что характерно для состояния гипертромбинемии. При этом уровень Д-димера (Me=1,85 [0,79;3,15]) был значимо повышен у 32 пациентов **(табл. 1)**, что согласуется с литературными данными, демонстрирующими, что у пациентов с диагнозом внебольничной пневмонии средний уровень Д-димера составляет 1,47 ±1,05 мкг/мл [19]. На данную особенность указали *Guneysel et al:* при обследовании 51 пациента с внебольничной пневмонией они обнаружили, что содержание Д-димера у пациентов с тяжелым течением пневмонии составляло 2,43 ±2,16 мкг/мл, а у пациентов с пневмонией средней тяжести — 0,91 ±0,51 мкг/мл [20]. Согласно другим данным, значения Д-димера у умерших на фоне внебольничной пневмонии пациентов составляли 3,78 мкг/мл, а у выживших — 1,61 мкг/мл [21].

Дальнейший анализ динамики Д-димера к моменту выписки пациентов из стационара показал, что его уровень снизился у 23 из 32 больных, не достигнув, однако, нормального (Me=0,94), и, наоборот, возрос у 9 пациентов (Me=2,19), при том, что в день госпитализации у этих пациентов уровень Д-димера также был значимо повышен (Me = 1,73).

Интересно отметить, что последующий анализ у этих 9 пациентов не обнаружил взаимосвязи повышения Д-димера с возрастом, полом, тяжестью течения пневмонии, антибиотиками, используемыми в процессе лечения, результатами лечения на момент выписки, курением. Значения РФМК, ТПТ, фибриногена и PAI-1 у данных 9 пациентов достоверно не отличались от аналогичных результатов у пациентов со снижением концентрации Д-димера. Таким образом, повышение концентрации Д-димера остается неясным. Возможно, это связано с плазмин-независимым фибринолизом, осуществляемым протеаза- ми лейкоцитов, способными деградировать фибрин до Д-димеров. К ним относятся гранулоцитарная эластаза, катепсин G, моноцитарный катепсин D и др. [22]. Так или иначе, динамика Д-димера у пациентов с внебольничной пневмонией требует дальнейшего изучения.

Таблица 1

Значения маркеров тромбинемии у пациентов с внебольничной пневмонией

Показатели 1 точки	Me	Q1; Q3	Показатели 2 точки	Me	Q1; Q3	Референтные пределы
Д-димер (мкг/мл)	1,85*	0,79;3,15	Д-димер (мкг/мл)	1,21	0,61;2,19	0-0,5*
РКФМ (мг/дл)	25#	17,0;28,0	РКФМ (мг/дл)	11,0	6,0;24,0	0-4,0#
Тех-полимер-тест	0,63◊	0,46;0,77	Тех-полимер-тест	0,93	0,68;1,28	0,81-1,19◊
PAI-1 (Ед./л)	22,29^	9,72;39,04	PAI-1 (Ед./л)	15,06	12,04;28,75	1-7^
Фибриноген (г/л)	6,63°	5,18;814	Фибриноген (г/л)	4,01	3,43;4,96	2-4°

Примечание: *p = 0,001; #p=0,001; ◊p = 0,002; ^p = 0,001; °p = 0,001.

Следующим этапом нашего исследования явился анализ динамики активности PAI-1 на фоне внебольничной пневмонии. Так, активность PAI-1 в первой и второй точках исследования превышала референтную границу у всех пациентов (p=0,001) без значимой разницы между изучаемыми точками. По-видимому, снижение активности PAI-1, также как и уровня Д-димера, происходит в более отдаленные сроки после купирования воспалительного процесса в легких. Так, по данным *Папаяна и Князевой,* повышенные концентрации Д-димера у пациентов с тромбозами глубоких вен возвращаются к норме в течение трех последующих месяцев [23].

В нашем исследовании повышение Д-димеров, характеризующее высокую фибринолитическую активность плазмы, не коррелировало с высокой активностью PAI-1, ингибирующего фибринолиз (первая точка: r=0,217; p=0,242; вторая точка: r = -0,164; p=0,433). Известно, что PAI-1 является острофазовым белком. Так, при воспалении экспрессия PAI-1 индуцируется в макрофагах C5a компонентом системы комплемента [24]. Также известно, что PAI-1 синтезируется альвеолярным эпителием и фибробластами [4].

Лабораторные исследования на активность тромбинемии, проведенные перед выпиской, выявили, что концентрация РФМК в динамике значимо снижалась (Me = 11,0; p=0,001), но при этом не достигала нормальных значений ни у одного из обследованных пациентов. И напротив, значения ТПТ в динамике в среднем соответствовали норме (Me = 0,93), при этом у 6 пациентов сохранялась гиперкоагуляция (Me = 0,59) и у 8 — гипокоагуляция (Me = 1,5). Гиперкоагуляция по тех-полимер-тесту закономерно сопровождалась значимо более высокой концентрацией Д-димеров, РФМК и фибриногена, чем у пациентов с гипокоагуляцией по тех-полимер-тесту (табл. 2).

Далее мы оценили возможные связи тяжести внебольничной пневмонии с нарушением в системе гемостаза. Так, среди пациентов с внебольничной пневмонией были выделены группы в зависимости от тяжести течения заболевания (средней тяжести и тяжелое течение) с последующей оценкой маркеров тромбинемии. Выявлено, что пациенты

Таблица 2

Динамика результатов тех-полимер-теста во 2 точке и взаимосвязь с другими показателями

Показатели 2 точки	Гиперкоагуляция n = 6	Гипокоагуляция n = 8
Тех-полимер-тест	0,59*	1,5*
Д-димеры (мкг/л)	1,66*	0,98*
РКФМ (мг/дл)	14,00	8,30
Фибриноген (г/л)	4,96^{л}	3,91^{A}
PAI-1 (Ед/л)	14,36	32,83

Примечание: *p = 0,001; #p = 0,049; Фр = 0,003; ^{л}p = 0,041.

с тяжелым течением внебольничной пневмонии имели более высокие уровни Д-димера (Me = 3,41 [2,9;3,92]) и более низкие значения ТПТ (Me=0,42 [0,36;0,48]) на момент госпитализации (p=0,002 и p=0,007, соответственно) в сравнении с пациентами со среднетяжелым течением заболевания (Me = 1,37 [0,55;2,19] и Me=0,68 [0,55;0,82], соответственно) (рис. 1, 2). Наши данные согласуются с результатами, полученными *Shilon et al,* показавшими, что уровень Д-димера прямо коррелирует с тяжестью течения внебольничной пневмонии, оцененной по шкалам APACHE и PORT [19]. При этом по содержанию фибриногена, РФМК и активности PAI-1 пациенты с тяжелым течением пневмонии достоверно не отличались от пациентов с пневмонией средней тяжести.

Следующим этапом исследования был анализ возможной связи маркеров тромбинемии с исходами внебольничной пневмонии. С этой целью среди пациентов выделили группу выписанных с полным выздоровлением и группу выписанных с остаточными явлениями поражения легких. Выявлено, что 21 пациент из 38 был выписан с неполным выздоровлением, и 3 пациента скончались. Установлено, что у пациентов, выписанных с неполным рассасыванием легочного инфильтрата, уровень Д-димеров в первой точке (Me = 2,1) был значимо выше, чем у полностью вылеченных пациентов (Me = 0,94; p=0,013). При значениях Д-димера более 0,7 нг/мл в первой точке исследования риск замедленного разрешения воспаления возрастал (ОР 2,172; 95% ДИ:0,839-5,622). Критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса составил 0,084, точный критерий Фишера — 0,052. Определение риска развития более длительного разре-

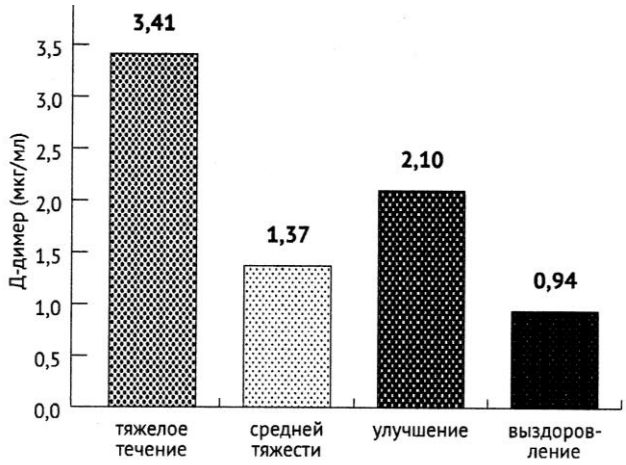


Рис. 1. Уровень Д-димера (Me) в зависимости от тяжести и исхода внебольничной пневмонии.

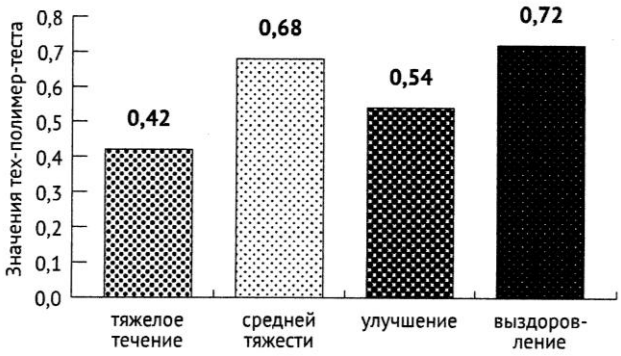


Рис. 2. Значения тех-полимер- теста (Me) в зависимости от течения и исхода внебольничной пневмонии.

шения пневмонии при исходно гиперкоагуляционном сдвиге по показателю ТПТ показало, что отношение рисков по показателю ТПТ менее 0,81 составило 1,56 (95% ДИ: 0,637-3,796). Исходные значения ТПТ у пациентов, выписанных с неполным выздоровлением, были ниже (Me=0,54), чем у пациентов с полным выздоровлением (Me = 0,72; p = 0,12). Среди других показателей — содержание фибриногена, РФМК и активность PAI-1 — не было выявлено различий в зависимости от клинического исхода.

Статистический анализ показал сильные корреляционные связи уровня Д-димера с содержанием фибриногена (r=0,466; p = 0,004), величинами ТПТ (r = -0,429; p=0,008) и РФМК (r=0,584; p=0,001) на момент поступления пациента в стационар. Во второй точке корреляционные связи сохранялись между значениями Д-димеров и РФМК (r=0,341; p=0,056), между значениями РФМК и фибриногена (r=0,59; p=0,001), между значениями РФМК и ТПТ (r = -0,373; p=0,033).

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с внебольничной пневмонией при поступлении в стационар отмечается статистически достоверное повышение маркеров тромбинемии и значимое их снижение к моменту выписки из стационара.
2. Тех-полимер-тест показал более выраженную динамичность для мониторинга уровня состояния тромбинемии при сравнении с содержанием Д-димеров и РФМК.
3. Уровень Д-димеров оказался значимо выше у пациентов с внебольничной пневмонией при неполном выздоровлении. При повышении уровня Д-димера более 0,7 риск замедленного разрешения возрастает. Ценность повышенного уровня Д-димеров для дифференциальной диагностики пневмонии и инфаркт-пневмонии теряется, так как их концентрация превышает референтный интервал как при пневмонии, так и при ТЭЛА.
4. Активность ингибитора активатора плазминогена была значимо повышена у всех пациентов с внебольничной пневмонией.

Результаты апробации новой тест-системы для определения концентрации фибриногена модифицированным методом Клаусса

А. П. Момот[1, 2], д. м. н., проф., рук. филиала
А. Г. Золовкина [2], к. м. н., доцент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики
А. Н. Мамаев[1, 2], д. м. н., ст. научный сотрудник филиала
[1] Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул
[2] ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Резюме
Проведена сравнительная характеристика результатов концентрации фибриногена плазмы крови с использованием отечественной тест-системы «МультиТех-Фибриноген), «Технология-Стандарт» (Россия) и тест-систем иностранного производства. Правильность и вариабельность результатов, полученных на полуавтоматических коагулометрах с разными принципами регистрации образования фибринового сгустка, соответствуют рекомендованным диапазонам. Установлена очень высокая корреляция результатов полученных при использовании тест-систем основанных на модифицированном методе Клаусса («МультиТех-Фибриноген», Россия и Multifibren U, Германия).
Ключевые слова: ***система гемостаза, концентрация фибриногена, модифицированный метод Клаусса.***

Summary
The comparative characteristic of the results of plasma fibrinogen concentration with test system MultiTeh-Fibrinogen, Technology Standard (Russia), and test systems of foreign production. The validity and variability of the results obtained at the semi coagulometer with different principles of registration of fibrin clot formation, with the recommended ranges. Set a very high correlation of the results obtained from the use of test systems based on the modified method of Clauss (MultiTeh-Fibrinogen, Russia and Multifibren U, Germany).

Key words: ***hemostasis, fibrinogen concentration, modified Clauss.***

Основная физиологическая роль системы гемостаза состоит в прекращении кровотечения за счет создания сети фибриновых волокон путем преобразования гликопротеина плазмы — фибриногена в полимер фибрина. Снижение или повышение концентрации фибриногена (КФ) являются клинически значимыми и должны быть точно определены в целях постановки диагноза и учета динамики течения заболевания. Каждая лаборатория должна самостоятельно установить нормальный диапазон КФ на основании проведенных измерений с помощью того или иного метода.

Для количественного определения концентрации фибриногена (КФ) в условиях клинико-диагностических лабораторий наиболее часто используют метод Клаусса [1, 3]. В основе метода лежит логарифмическая зависимость КФ в разведенной исследуемой плазме от lg времени образования сгустка после добавления к плазме тромбина высокой активности. Исследование

КФ по методу Клаусса предназначено для выполнения на коагулометрах с любыми известными типами регистрации времени образования сгустка фибрина: оптическим, механическим, оптико-механическим, нефелометрическим. Перед регистрацией времени образования фибринового сгустка исследуемую плазму первоначально разводят буферным раствором в 10 раз, поскольку в условиях высокой активности тромбина и низких концентраций фибриногена наблюдается линейная зависимость концентрации от времени образования фибрина. В связи с этим определение КФ без дополнительного разведения плазмы крови производят ориентировочно в диапазоне до 5,0 г/л.

В клинической практике проводят исследование КФ для оценки острой фазы воспаления, риска развития сосудистых катастроф, состояния системы гемостаза. Концентрация фибриногена у здорового человека составляет 2,0-4,0 г/л, однако она может значительно снижаться при

кровопотере, ДВС-синдроме, а также превышать концентрацию 10 г/л при бактериальных инфекциях, травмах [1, 2]. Следовательно, для практического здравоохранения представляет интерес использование тест-систем, имеющих широкий диапазон определения КФ.

С позиции качества лабораторной диагностики нам представляется целесообразным использование в практике модифицированного метода Клаусса, исключающего предварительное разведение плазмы крови [4, 5, 6]. Модифицированный метод Клаусса, без предварительного

Таблица 1
Результаты оценки правильности и воспроизводимости на коагулометре start 4
С механическим принципом регистрации образования сгустка

	Fibrinigen (Helena)	Fibrinogen Reagent (Roche)	Тех-Фибриноген-тест (Технология-Стандарт)	Multifibren U (Siemens)	МультиТех-Фибриноген (Технология-Стандарт)
X, г/л	2,5	2,6	2,8	2,6	2,7
S, г/л	0,10	0,16	0,10	0,08	0,03
B, %	- 5,16	- 1,04	6,24	1,38	3,32
CV, %	3,99	6,40	3,59	2,89	1,05

Примечания: X, г/л – среднее арифметическое значение; S, г/л – среднее квадратическое отклонение; B,% - относительная систематическая погрешность, смещение; CV, % - коэффициент вариации.

разведения образцов исследуемой плазмы, использован в тест-системе Multifibren U фирмы Siemens (Германия). Для построения калибровочной кривой дополнительно к набору реагентов необходим набор калибраторов из шести образцов лиофилизированной плазмы с КФ, ориентировочно, — 0,6; 1,1; 2,5; 3,7; 6,0; 9,0 г/л.

Учитывая отсутствие на рынке до последнего времени отечественных аналогов, в настоящей работе были изучены аналитические характеристики новой тест-системы «МультиТех-Фибриноген» производства фирмы «Технология-Стандарт» (Россия) для определения КФ при проведении клинико-диагностических лабораторных исследований. При этом представляло интерес сравнение результатов, полученных при использовании различных тест-систем на разных типах коагулометров.

Материалы и методы

В работе были использованы тест-системы для определения фибриногена производства фирмы «Технология-Стандарт» («МультиТех-Фибриноген» [1] и «Тех-Фибриноген-тест» [2]), Siemens (Multifibren U [1]), Helena (Fibrinigen Assay [2]), Roche (Fibrinogen Reagent[2]). Исследование было проведено с использованием плазм Siemens (Fibrinogen Calibrator) с аттестованным содержанием фибриногена 0,6; 1,1; 2,3; 3,4; 5,6; 8,4 г/л и калибровочной плазмы того же производителя, с содержанием фибриногена 2,6 г/л. Определение фибриногена осуществляли на распространенных в России полуавтоматических коагулометрах с механическим — Start 4 (Roche), KC4D (Trinity Biotech), оптико-механическим — АПГ2-02 (Эмко, Техномедика) и оптическим — CoaDATA 4001 (Helena Biosciences Europe) принципами регистрации образования фибринового сгустка. Статистическая обработка результатов проведена с помощью программ MYSTAT и SPSS 16.0 с использованием методов параметрической статистики.

Результаты и обсуждение

Для определения КФ предварительно было проведено построение калибровочных кривых для всех сочетаний приборов и наборов реагентов. Калибровка тест-системы «МультиТех-Фибриноген» выполнена с использованием набора «Фибриноген-Калибратор» производства фирмы «Технология-Стандарт» (Россия), состоящего из пяти лиофилизированных образцов калибровочных плазм с концентрацией фибриногена 1,25; 2,2; 3,2; 5,5; 8,0г/л. Построенные калибровочные кривые позволяют говорить о зависимости времени образования фибринового сгустка и КФ, близкой к линии, на всех используемых коагулометрах. Установлено, что при построении калибровочных кривых диапазон линейности, определенный при калибровке, зависел не только от используемых реагентов, но и от прибора, на котором проводилось исследование. Так, на коагулометрах АПГ2-02 и CoaDATA 4001 определить время образования сгустка фибрина при КФ менее 1,0 г/л не удавалось, поскольку при перемешивании в кювете количество фибрина было недостаточным для регистрации момента образования сгустка.

Далее, на основании полученных калибровочных кривых, было выполнено определение КФ в аттестованных коммерческих образцах контрольной плазмы. Для оценки правильности и сходимости по каждому использованному набору реагентов использовали контрольную плазму нормального уровня производства Siemens с аттестованным значением 2,6 (2,1-3,1) г/л. Было установлено, что в данной плазме КФ определяется с достаточной правильностью и воспроизводимостью всеми применяемыми тест-системами (табл. 1). Можно видеть, что наборы реагентов, предусматривающих плазмодилюцию, характеризуются большим коэффициентом вариации (до 6,4 %), оценивающим случайную погрешность в результатах, что, на наш взгляд, обусловлено этапом разведения проб плазмы буферным раствором. В таблице представлены результаты, полученные на коагулометре Start 4 (Roche, Diagnostica Stago, Германия).

В табл. 2 приведены данные по стабильности определения КФ в плазме крови наборами реагентов разных фирм при проведении исследования по методу Клаусса с предварительным разведением плазмы 1:10, и использовании цельной плазмы при проведении иссле-

[1] Предусматривает проведение исследования по модифицированному методу Клаусса.
[2] Выполняется по классической схеме метода Клаусса.

Таблица 2
Результаты определения КФ тест-системами разных производителей

г/л	Fibrinigen (Helena)	Fibrinogen Reagent (Roche)	Тех-Фибриноген-тест (Технология-Стандарт)	Multifibren U (Siemens)	МультиТех-Фибриноген (Технология-Стандарт)
	Разведение плазмы 1:10			Цельная плазма	
0,60	±	±	±	±	±
1,10	+	+	+	+	+
2,30	+	+	+	+	+
3,40	+	+	+	+	+
5,60	+	+	+	+	+
8,40	-	-	-	+	+

Примечание: ± — время образования фибринового сгустка зафиксировано не всеми приборами; + — определено время образования фибринового сгустка на разных приборах; — время образования фибринового сгустка не зафиксировано всеми приборами.

Таблица 3
Сравнительная характеристика тест-систем по способности определять КФ в широком диапазоне

Аттестованное значение	Концентрация фибриногена, г/л: Multifibren U Start 4	Multifibren U АПГ2-02	Multifibren U CoaData	Multifibren U KC4D	МультиТех-Фибриноген Start 4	МультиТех-Фибриноген АПГ2-02	МультиТех-Фибриноген CoaData	МультиТех-Фибриноген KC4D
0,6 (0,3-0,9)	0,87	-	-	-	0,44	-	0,48	0,62
1,1 (0,8-1,4)	1,16	0,86	0,91	0,94	0,90	1,26	1,01	1,27
2,3 (2,0-2,6)	2,63	2,23	2,21	1,98	2,42	2,11	2,63	2,24
3,4 (2,9-3,9)	3,08	3,37	4,01	3,66	3,88	3,17	3,90	3,17
5,6 (5,0-6,2)	6,07	5,96	6,03	5,59	5,82	5,30	5,90	5,66
8,4 (7,6-9,2)	8,90	7,87	9,05	8,46	8,80	8,30	7,74	8,79

дования по модифицированному методу. Установлено, что применение модифицированного метода Клаусса позволяет расширить диапазон уверенного определения КФ для разных типов коагулометров, особенно в области высоких концентраций, требующих дополнительного разведения пробы при классическом варианте метода.

Следующим этапом работы стало проведение сравнения существующих тест-систем для определения КФ без предварительной плазмодилюции Multifibren U и «МультиТех-Фибриногена» в диапазоне заявленной линейности метода. Для этого использовали контрольные аттестованные плазмы с КФ от 0,6 до 8,4 г/л (табл. 3). Установлено, что определение КФ в образцах с концентрацией 0,6 г/л, не входящей в диапазон линейности методов, было доступно тест-системе Multifibren U только на коагулометре Start 4, в то время как использование набора «МультиТех-Фибриноген» позволило надежно определить концентрацию фибриногена в этом образце на трех приборах.

Полученные результаты входят в определенный производителем контрольных материалов диапазон аттестованных значений на всех используемых приборах. Коэффициент вариации между приборами минимален в диапазоне концентраций 2,3-5,6 г/л — 3,2 % и имеет максимальное значение на концентрации 8,4 г/л — 7,9 %, что соответствует международным критериям оценки вариабельности КФ [7].

Значения КФ в плазмах, полученные на различных коагулометрах с использованием наборов реагентов «МультиТех-Фибриноген» и Multifibren U на всей области линейности теста были оценены с помощью корреляционного анализа. Значимых различий между результатами, полученными с использованием этих наборов реагентов, в зависимости от вида коагулометра, не выявлено. Коэффициент корреляции Пирсона составил для разных приборов от p = 0,993 до p = 0,998.

Заключениие

Применение модифицированного метода Клаусса в тест-системе «МультиТех-Фибриноген» позволяет расширить диапазон уверенного определения КФ для разных типов коагулометров, особенно в области высоких концентраций, требующих дополнительного разведения пробы при классическом варианте метода.

Список литературы

1. *Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Изд-во «Ньюдиамед» 2008.-292 с.*
2. *Долгов В. В., Свирин П. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. — М. Тверь: ООО «Издательство „Триада”». —2005. —227с.*
3. *Лабораторные методы исследования системы свертывания крови: Методические рекомендации АТТПСС им. А. Шмидта-Б. А. Кудряшова. Изд. 2-е. — М. — 2011.15 с.*
4. *Jennings I. et al. Differences between Multifibrin U and conventional Clauss fibrinogen assays: data from the UK National External Quality Assessment scheme/I. Jennings, D. P. Kitchen, T. A. Woods, S. Kitchen, I. D. Walker//Blood Coagul. Fibrinolysis.— 2009. — Vol. 20. — P. 388-90.*
5. *Mackie I. J. et al. Guidelines on fibrinogen assays/I. J. Mackie, S. Kitchen, S. J. Machin, G. D. Lowe//Br. J. Haematol.— 2003 — Vol. 121. — P. 396-404.*
6. *Palareti G., Maccaferri M. Specific assays of hemostasis proteins: fibrinogen//Ric. Clin. Lab. — 1990.— Vol. 20 (2). — P. 167-76.*
7. *Ricos C. et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress/C. Ricos, V. Alvarez, F. Cava, J. V. Garcia-Lario, A. Hernandez, C. V. Jimenez, J. Minchinela, C. Perich, M. Simon//Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1999. — Vol. 59. — P. 491-500.*

Мониторирование гепаринотерапии в клинической практике

А.П. Момот[1,2], *д.м.н., проф., рук. филиала*
А.Г. Золовкина[3], *к.м.н., зав. лабораторией*
Е.В. Григорьева[2], *к.м.н., м.н.с. центральной научно-исследовательской лаборатории*
И.А. Тараненко[1,2], *к.м.н., н.с. филиала*
[1]*Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул*
[2]*ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул*
[3]*ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, г. Барнаул*

Проведено сравнительное исследование часто используемых АПТВ-реагентов различных фирм-производителей на коагулометрах с различным механизмом детекции фибрина. Учитывалась чувствительность АПТВ-реагентов к высоким и низким концентрациям нефракционированного гепарина, содержащегося в коммерческой контрольной плазме.

Ключевые слова: *система гемостаза, АПТВ-реагент, контроль гепаринотерапии.*

Исследования системы гемостаза в клинической практике выполняются, как известно, с целью диагностики различных нарушений свертывания крови и контроля медикаментозной терапии. Особенностью данного раздела лабораторной диагностики является наличие широкого перечня методов исследования, большинство которых не стандартизированы, что порождает возможность ошибочной трактовки полученных данных. К числу таких методов относится активированное парциальное (или частичное) тромбопластиновое время (АПТВ/АЧТВ), выполняющееся на обедненной тромбоцитами цитратной плазме крови и использующееся для решения целого ряда диагностических задач - мониторирования гепаринотерапии, определения активности некоторых факторов свертывания (VIII, IX, XI, XII) и антител к ним, выявления волчаночного антикоагулянта и некоторых других [1, 2].

Первые сообщения о целесообразности использования АПТВ для мониторинга гепаринотерапии появились в 1962 году [5]. С тех пор, метод оценки АПТВ рекомендуется профессиональными сообществами для мониторинга дозирования нефракционированного гепарина [9]. Такой лабораторный контроль позволяет корректировать дозу гепарина определяя и поддерживая целевой терапевтический диапазон от 1,5 до 2,5 по отношению АПТВ (больной/контроль) [3, 6]. Экспериментальные исследования показали, что поддержание этого терапевтического диапазона позволяет достигнуть клинически значимой гипокоагуляции, без увеличения числа геморрагических осложнений. При этом известно, что поддержание гипокоагуляции по отношению АПТВ на уровне более 2,5, как правило, сопровождается значительным увеличением числа кровотечений [7]. По данным Anand et al. при результате АПТВ до 100 секунд, увеличение времени свертывания в тесте на 10 секунд увеличивает риск кровотечения на 7% [4]. Тем не менее, эти рекомендации относительны, поскольку различные тест-системы обладают разной чувствительностью к гепарину и в ряде случаев удлинение АПТВ менее чем в 1,5 раза может сопровождаться геморрагическим синдромом. Как известно, диапазон, рекомендованный для контроля гепаринотерапии, предполагает определение лабораторией референтных значений АПТВ, с учетом использования той или иной аналитической системы, и информирование об этом лечащих врачей [8].

АПТВ-реагенты получают обычно с использованием биологических источников липидов (головной мозг животных, бобы сои) или путем их искусственного синтеза. При этом класс фосфолипидов и жирных кислот, входящих в состав этих реагентов, весьма разнообразен. Активность реагентов и их чувствительность к дефициту факторов свертывания, гепарину и волчаночному антикоагулянту зависит не только от состава фосфолипидов, но и от используемых активаторов контактной фазы свертывания крови - каолина, эллаговой кислоты, диоксида кремния и других.

К сожалению, для рассматриваемого метода исследования, отсутствует процедура стандартизации, аналогичная применяемой для протромбинового теста. В связи с этим, результаты, полученные в разных лабораториях, мало сопоставимы. Учитывая, что в распоряжении клинических лабораторий в России имеются более 10 соответствующих тест-систем отечественного и импортного производства. Целью настоящего исследования явился сравнительный анализ наиболее часто используемых реагентов АПТВ и аттестация их по чувствительности к гепарину.

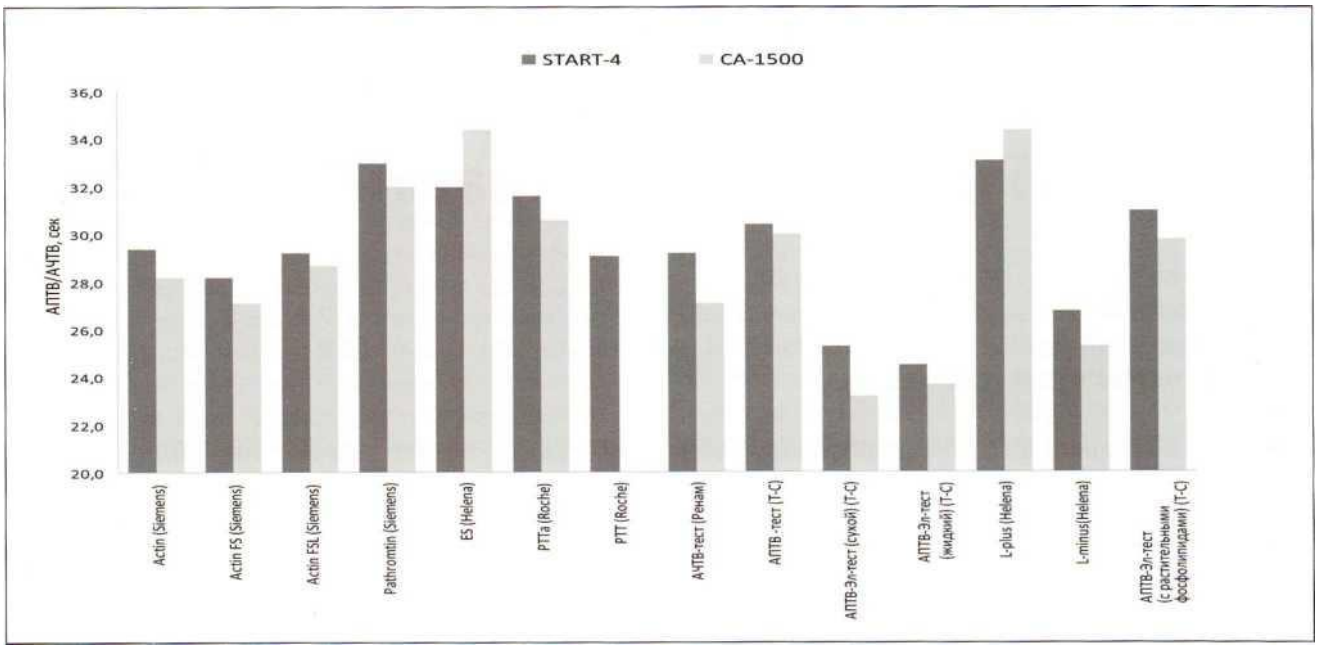


Рис. 1. Результаты исследования контрольной плазмы N с помощью АПТВ-реагентов различных производителей

Материалы и методы

В работе были использованы коммерческие плазмы производства фирмы Siemens, аттестованные по содержанию гепарина (Dade CiTrol Heparin Controls, Low and High) и Plasma control N. Сравнивали результаты, полученные при использовании следующих тест-систем: АПТВ-Эл-тест, жидкий и сухой, АПТВ-тест, АПТВ-Эл-тест (с растительными фосфолипидами) (фирмы Технология-Стандарт; примечание: в тексте, таблицах и рисунке приведено сокращенное обозначение фирмы - Т-С), АЧТВ-тест (фирмы Ренам), Actin, Actin FS, Actin FSL, Pathromtin (Siemens), PTT, PTTa (Roche) и ES (Helena), заказанными для исследования в 2013 году. Определение АПТВ проводили с помощью полуавтоматического коагулометра Start-4 (Roche), с механическим способом регистрации образования фибрина, а также автоматического анализатора гемостаза СА-1500 (Sysmex), имеющего оптическую систему детекции. Исследования дублировались, учитывался средний результат.

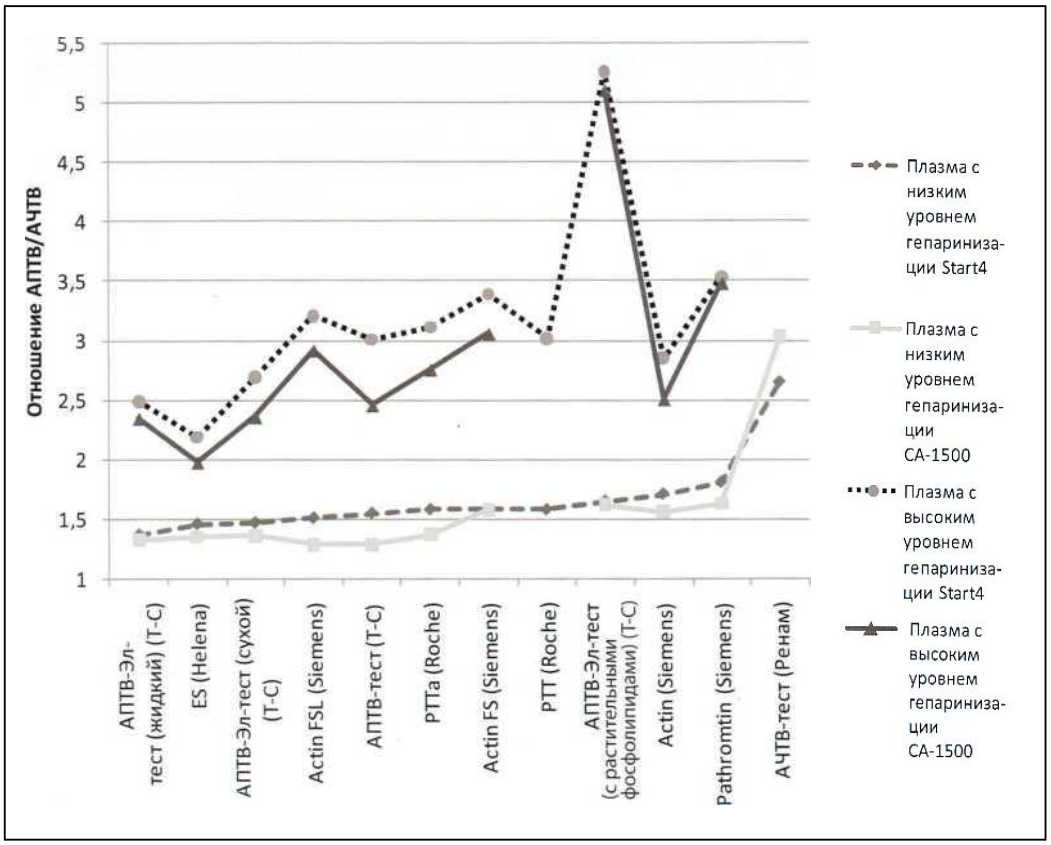


Рис. 2. Отношение АПТВ/АЧТВ, определенное в образцах плазмы, аттестованных по активности гепарина

Таблица 1. Результаты определения АПТВ/АЧТВ в образцах плазмы, стандартизированных по уровню нефракционированного гепарина

	Время АПТВ/АЧТВ, сек				Отношение АПТВ/АЧТВ			
Тест-система	Плазма с низким уровнем гепарина (0,2 Ед/мл)		Плазма с высоким уровнем гепарина (0,6 Ед/мл)		Плазма с низким уровнем гепарина (0,2 Ед/мл)		Плазма с высоким уровнем гепарина (0,6 Ед/мл)	
	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500
АПТВ-Эл-тест (жидкий) (Т-С)	35,1	34,7	63,8	61,4	1,37	1,33	2,49	2,35
ES (Helena)	47,8	52,7	71,5	77,3	1,46	1,35	2,19	1,98
АПТВ-Эл-тест (сухой) (Т-С)	37,8	37,7	69,5	65,1	1,47	1,36	2,69	2,36
Actin FSL (Siemens)	45,0	40,9	95,7	91,9	1,51	1,29	3,21	2,92
АПТВ-тест (Т-С)	48,1	45,7	93,1	87,4	1,55	1,29	3,01	2,46
PTTa (Roche)	56,2	51,4	110,9	103,7	1,58	1,37	3,11	2,76
Actin FS (Siemens)	45,2	48,2	97,0	93,6	1,58	1,58	3,39	3,06
PTT (Roche)	48,9	-	93,7	-	1,58	-	3,02	-
АПТВ-Эл-тест (с растительными фосфолипидами) (Т-С)	51,2	50,4	163,2	158,1	1,65	1,72	5,26	5,10
Actin (Siemens)	47,8	42,5	79,7	68,5	1,71	1,56	2,85	2,51
Pathromtin (Siemens)	62,6	58,9	122,2	126,1	1,81	1,63	3,53	3,48
АЧТВ-тест (Ренам)	83,1	100,7	>200	>200	2,65	3,03	-	-

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования был проведен анализ активности АПТВ-реагентов в контрольной плазме N (Plasma control N, Siemens) параллельно - на автоматическом и полуавтоматическом коагулометрах. Как видно из рис. 1 результат АПТВ зависел от используемых тест-систем и составил при выполнении исследования на автоматическом анализаторе CA-1500 от 23,2 до 34,4 (28,2±3,73) сек, и от 25,3 до 33,1 (28,9±2,79) сек, при анализе на полуавтоматическом анализаторе Start-4.

Полученные данные свидетельствовали о различной активности исследованных реагентов, которая, в целом, соответствовала референтным диапазонам, указанным в инструкции к соответствующим тест-системам. Известно также, что диапазон нормальных значений АПТВ обычно составляет 25-36 сек [9].

Далее, для оценки чувствительности анализируемых реагентов к гепарину были проведены исследования плазмы, стандартизованной по уровню этого антикоагулянта, с низким (0,2 Ед/мл) и высоким уровнем (0,6 Ед/мл) гепаринизации. По каждому образцу плазмы рассчитывалось отношение АПТВ с использованием в качестве знаменателя результата исследования контрольной плазмы N соответствующим набором реагентов.

Можно видеть, что время образования фибрина при использовании различных АПТВ-реагентов варьировало в широком диапазоне значений для плазм с низким и высоким уровнем гепаринизации (табл.1 и рис. 2). Сравнительную оценку чувствительности тест-систем к гепарину провели по отношению АПТВ для всех исследованных образцов тест-систем. В данной таблице и на рисунке АПТВ-реагенты были ранжированы в соответствие с чувствительностью к малой дозе гепарина в контрольной плазме, исследованной на коагулометре Start-4. Если оценить полученное отношение АПТВ то определяется его разброс от 1,33 до 3,03 в образце плазмы с низким уровнем гепарина (удлинение от контрольных значений, в среднем, в 1,63 раза) и от 1,98 до 5,26 в образцах с высоким уровнем этого антикоагулянта (удлинение от контрольных значений, в среднем, в 3,03 раза). Отметим, что отсутствие данных по реагенту PTT (Roche) на анализаторе CA-1500 связано с высокой мутностью реактива, не предназначенного для использования в условиях оптической системы детекции фибрина. Кроме того, результат исследования плазмы с высоким уровнем гепарина в случае применения набора реагентов АЧТВ-тест (Ренам) превысил 200 секунд и не был зафиксирован приборами.

Можно констатировать, что активность АПТВ-реагентов мало значима для мониторирования гепаринотерапии. Так при исследовании плазмы с низким уровнем гепарина реагентами PTTa (Roche) полученные 56,2 сек соответствовали отношению АПТВ - 1,58, а 62,6 сек в тесте с реагентами Pathromtin (Siemens) - отношению АПТВ 1,81. В тоже время результат 63,8 сек

был определен при высоком уровне гепаринизации с отношением АПТВ равным 2,49, при исследовании плазмы реагентами АПТВ-Эл-тест (жидкий) (Т-С).

Оценивая кратность возрастания времени образования фибрина в АПТВ с использованием разных приборов и на разных уровнях гепаринизации плазмы мы установили, что наибольшей чувствительностью к гепарину обладает тест-система Pathromtin (Siemens), а наименьшей - АПТВ-Эл-тест (жидкий) и ES (Helena). При сравнении результатов этих тест-систем полученных на одном образце исследуемой плазмы отношение АПТВ/АЧТВ отличается более чем в 1,5 раза. Вероятно, высокой чувствительностью к гепарину обладает и тест-система АЧТВ-тест (Ренам), однако, оценить ее результаты в диапазоне высоких уровней гепаринизации не удалось.

Заключение

В настоящее время отечественным лабораториям доступна линейка импортных и отечественных тест-систем для определения АПТВ. Однако международное профессиональное сообщество не выработало методов его стандартизации, как это было с протромбиновым тестом. Использование разных АПТВ-реагентов для мониторирования гепаринотерапии без учета индивидуальной чувствительности реагента к гепарину может иметь неблагоприятные клинические последствия в виде кровотечений и тромбозов. Мы полагаем, что оптимально в этих целях использовать тест-системы, имеющие средние значения чувствительности к данному антикоагулянту. Проведенные исследования подтверждают тезис о том, что те или иные АПТВ-реагенты имеют предпочтительные цели использования. Следующие публикации в этом направлении планируются по оценке чувствительности АПТВ-реагентов при определении дефицита VIII и IX факторов свертывания крови и выявлении эффектов волчаночного антикоагулянта.

Литература

1. *Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2008. - 292 с.*
2. *Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Изд-во «Форма Т», 2006. - 208 с.*
3. *Савельев В.С., Чазов Е.И., Гусев Е.И., Кириенко А.И., Акчурин Р.С., Андрияшкин В.В. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений: Методические рекомендации. М.: Изд-во «Медиа Сфера», 2010 г. - 53 с.*
4. *AnandSS. Etal. Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes Investigators. Relation ship of activated partial thromboplastin time to coronary events and bleeding in patients with acute coronary syndromes who receive heparin/ SS. Anand, S. Yusuf, J. Pogue, JS. Ginsberg, J. Hirsh// Circulation. - 2003 Jun 17. - Vol. 107, №23. - P. 2884-8.*
5. *Struver GP. Et al. The partial thromboplastin time (cephalin time) in anticoagulation therapy/ GP. Struver, DL. Bittner //Am J Clin Pathol. - 1962 Nov. - Vol. 38. - P. 473-81.*
6. *ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting with out persistent ST-segment elevation. Eur Heart J. -2011. - Vol. 32, № 23. - P. 2999-3054.*
7. *Hirsh J. Heparin/ J. Hirsh// N Engl J Med. - 1991. - Vol. 324. - P 1565-74.*
8. *Nelson DE. Current considerationsintheuseofthe APTT in monitoring unfractionatedheparin/ DE. Nelson// Clin Lab Sci. - 1999 Nov-Dec. - Vol. 12, № 6.- P. 359-364.*
9. *Practical Hemostasis and Trombosis/ ed. by N. Key, M. Markris, D. O'Shaughnessy, D. Lillicrap. 2nded. - Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009 -311 P.*

Опыт мониторирования эффектов непрямых антикоагулянтов при использовании различных тромбопластиновых реагентов

А. П. Момот[1,2], д.м.н., проф., рук. филиала
Е. В. Григорьева[2], к.м.н.
И. А. Тараненко[1,2], к.м.н.
А. Н. Мамаев[1,2], д.м.н.

[1]Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул
[2]ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Experience of monitoring the effects of indirect anticoagulants using different thromboplastin reagents

A. P. Momot, E. V. Grigoryeva, I. A. Taranenko, A. N. Mamaev



А. П. Момот

Резюме
Проведено сравнительное исследование тромбопластинов различных производителей для выполнения протромбинового теста в рамках лабораторного контроля за приемом антагонистов витамина К. Измерения проводились на автоматическом и полуавтоматическом коагулометрах, предусматривающих различные способы регистрации результатов. В ходе работы анализировалась плазма крови шести пациентов, находящихся в стабильной фазе терапии варфарином, назначенным в связи с рецидивирующим тромбоэмболическим синдромом. В результате проведенных исследований определена широкая вариация результатов измерения международного нормализованного отношения, указывающая на существующую проблему в данном разделе лабораторной диагностики.
Ключевые слова: ***система гемостаза, тромбопластин, контроль варфаринотерапии.***

Summary
A comparative study of thromboplasins various manufactures to perform protrombin test laboratory control over intake of vitamin K antagonists measurements were carried out on an avtomatic and semi-avtomatic coagulometr, providing different ways of recording the results. During the analyzed blood plasma of six patients in the stable phase of warfarin therapy, appointed in connection with recurrent thromboembolic syndrome. The studies identified a wide variation in the measurements of the international normalized ratio, indicating the existing problem in this topic of laboratory diagnostics.
Key words: ***hemostasis, thromboplastin, control of warfarin therapy.***

Современная стратегия антитромботической терапии предполагает отдельное или комплексное применение средств, ингибирующих функцию тромбоцитов (антиагрегантов), препаратов, активирующих тромболизис и антикоагулянтов. Среди последних различают, как известно, антикоагулянты «прямого действия», к которым относятся обычный и низкомолекулярные гепарины, прямые пероральные ингибиторы фактора Ха и IIа-тромбина (ривароксабан, дабигатрана этексилат и др.) и антикоагулянты непрямого действия, ингибирующие при приеме внутрь синтез витамин К-зависимых факторов свертывания (кумарины — варфарин и его аналоги).

Кумарины являются, как известно, родоначальниками современной антитромботической терапии и продолжают использоваться для длительной профилактики венозных тромбоэмболических осложнений [1, 2].

Основная и очень важная проблема при приеме кумаринов связана с необходимостью тщательного и точного контроля за дозировкой этих препаратов. Такой контроль требуется на всем протяжении лечения (часто многолетнем), но особенно в начальной фазе терапии, когда идет подбор оптимальных доз препаратов в первые препаратов и индивидуально варьируют у разных пациентов [3, 4]. С этой целью применяется протромбиновый тест (ПТ), в прошлом и в настоящее время относящийся к так называемым «глобальным», простым и повсеместно применяемым методам исследования системы гемостаза, позволяющим проводить скрининг нарушений, связанных с синтезом витамин К-зависимых факторов свертывания крови [4, 5].

При выполнении ПТ используются реагенты, исторически обозначаемые как «тромбопластины», представляющие собой надмолекулярную субстанцию биологического или рекомбинантного происхождения, содержащую смесь тканевого фактора и различных фосфолипидов. В целях стандартизации таких определений у пациентов, получающих антагонисты витамина К, учитывается международный индекс чувствительности тромбопластина (МИЧ), позволяющий принимать во внимание индивидуальную способность того или иного реагента к выявлению дефицита факторов протромбинового комплекса [6, 7]. При этом стремятся к достижению целевого показателя гипокоагуляции (в единицах международного нормализованного отношения, МНО), как правило, в диапазоне от 2,0 до 3,0. Все эти подходы призваны повысить точность лабораторного

мониторинга, уменьшить межлабораторную вариацию получаемых результатов и, прежде всего, избежать геморрагических осложнений и рецидивов сосудистой ишемии у больных, нуждающихся в варфаринотерапии.

Тем не менее, по опыту нашей клиники, при учете результатов определения ПТ у больных, длительно получающих непрямые антикоагулянты, часто имеются серьезные разночтения в случае использования тромбопластинов различного происхождения. Это и послужило основанием для проведения настоящей работы, целью которой явился сравнительный анализ результатов МНО при мониторировании антикоагулянтных эффектов варфарина.

Материалы и методы

В работе исследовалась плазма крови пяти практически здоровых людей (в возрасте от 20-ти до 34-х лет) и шести больных с ВТЭО в анамнезе, находящихся в стабильной фазе варфаринотерапии (в возрасте от 25-ти до 48-ми лет). Следует отметить, что пациенты проходили обследование в лаборатории патологии гемостаза поликлиники КГБУЗ «Краевая клиническая больница г. Барнаула», в течение последних трех недель не меняли дозу варфарина, и у них не было проявлении геморрагического синдрома.

Для получения анализируемых образцов кровь забиралась из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2 %). С целью получения обедненной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 минут при комнатной температуре.

В рамках данного исследования были использованы 15 коммерческих образцов тромбопластина российских и зарубежных производителей с разными значениями МИЧ (табл. 1). В соответствии с паспортом к набору реагентов основное число тромбопластинов имели индекс чувствительности от 0,97 до 1,25.

Методика определения протромбинового времени свертывания и расчета МНО по результатам ПТ в исследуемом и контрольном (нормальном) образцах плазмы соответствовала имеющимся рекомендациям [4, 8, 9].

Измерения протромбинового времени проводились с использованием полуавтоматического коагулометра Start4 (Roche), с механическим принципом регистрации образования сгустка фибрина, а также автоматического анализатора гемостаза CA-1500 (Sysmex) с оптической системой детекции.

Результаты

На первом этапе работы был проведен анализ протром- бинового времени контрольной нормальной плазмы (пула из образцов плазмы пяти здоровых доноров, смешанной в равных долях), определенного на полуавтоматическом и автоматическом коагулометрах при использовании различных тромбопластинов.

Таблица 1
Изученные тромбопластиновые реагенты

№	Реагенты	МИЧ
1.	Тромбопластин, ЭМКО (серия 130305)	1,00
2.	Техпластин, жидкий реагент, Технология-Стандарт (серия Д 133234)	1,10
3.	Тромбопластин-тест (сухой), ГНУ ИФОХ НАН Беларуси (серия 280213)	1,10
4.	Ренампластин ПГ 5/1, Ренам (серия 1113)	1,20
5.	Neoplastine R 15, Diagnostica Stago (lot 109991)	0,97
6.	Dade Innovin, Siemens, (lot 539236)	0,94
7.	Hemosil RecombiPlasTin 2G, Instrumentation Laboratory (lot N0821174)	1,03
8.	Thromboplastin PT-S-4, Cormay (lot 208-19)	1,04
9.	Medi PT reagent, BioMedica Diagnostics Inc. (lot 010U-B265A)	1,06
10.	Thromborel S, Siemens (lot 545492)	1,08
11.	TriniCLOT PT excel S, Tcoag (lot C279014)	1,12
12.	HemoStat Thromboplastin-SI, Human, (lot 12016)	1,17
13.	Thromboplastin LI, Helena (lot 21093640)	1,19
14.	Neoplastine CL Plus 5, Diagnostica Stago (lot 110240)	1,25
15.	Thromboplastin PT-4, Cormay (lot 20-210)	2,19

Таблица 2
Значения протромбинового времени в контрольной нормальной (пулированной) плазме, секунды

№ реагента (табл. 1)	Способ детекции образования фибрина							
	Механический				Оптический			
	n1	n2	n3	Среднее	n1	n2	n3	Среднее
1.	15,0	14,9	15,1	**15,0**	15,2	15,4	15,3	**15,3**
2.	13,5	13,5	14,8	**13,9**	13,2	14,1	13,7	**13,7**
3.	16,5	17,0	17,0	**16,8**	18,5	19,9	20,2	**19,5**
4.	15,9	15,7	15,5	**15,7**	14,0	14,7	14,8	**14,5**
5.	11,8	12,3	12,5	**12,2**	11,4	12,5	12,4	**12,1**
6.	8,2	8,3	8,5	**8,3**	7,9	8,3	9,2	**8,5**
7.	10,3	9,8	10,3	**10,1**	9,2	9,6	9,6	**9,5**
8.	13,9	12,7	13,8	**13,4**	12,6	13,0	12,9	**12,8**
9.	12,7	12,3	12,7	**12,6**	12,8	12,6	13,3	**12,9**
10.	12,0	11,4	11,8	**11,7**	12,9	12,6	12,7	**12,7**
11.	13,5	13,5	13,9	**13,6**	13,2	13,8	13,5	**13,5**
12.	14,1	13,3	13,7	**13,7**	12,4	12,8	12,7	**12,6**
13.	13,2	12,6	13,0	**12,9**	13,6	15,4	16,5	**15,2**
14.	10,9	11,3	11,1	**11,1**	11,6	12,0	11,7	**11,8**
15.	11,4	11,5	11,4	**11,4**	11,1	11,9	11,9	**11,6**

Примечание: n1, n2, n3 — результаты отдельных измерений протромбинового времени в секундах.

Все измерения повторяли трижды, вычисляли средний результат (табл. 2).

Можно видеть, что результат ПТ зависел от тех или иных используемых тромбопластинов, а также способа детекции. При использовании оптического способа регистрации образования фибрина искомое время находилось в диапазоне от 7,9 до 20,2 с, в то время как

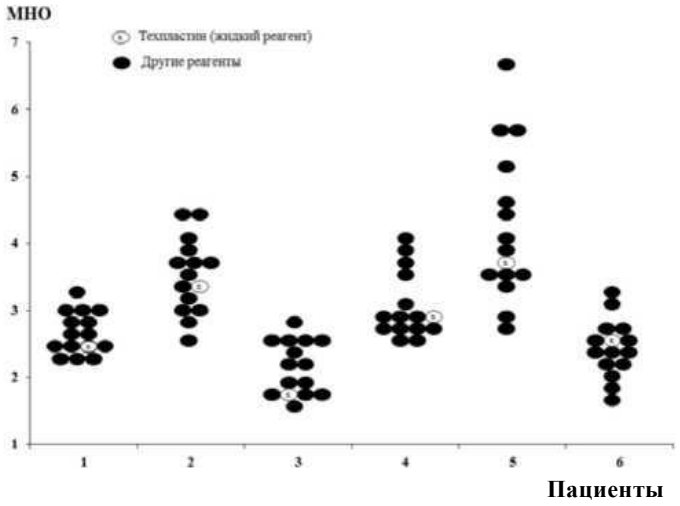


Рисунок. Результаты определения МНО у больных, получающих варфарин, при использовании различных тромбопластиновых реагентов.

механический способ регистрации привел к сравнительно меньшему разбросу данных: от 8,2 до 17,0 с. Следовательно, применение различных способов регистрации результатов оказывает непосредственное влияние на показания ПТ.

Вторая и более значимая часть работы предусматривала анализ вариации МНО у одних и тех же пациентов в стабильной фазе варфаринотерапии в случае применения различных, стандартизированных по МИЧ коммерческих тромбопластинов. Полученные данные при работе с коагулометром Start4, приведенные на рис., свидетельствуют о неудовлетворительной сопоставимости результатов по целому ряду исследованных реагентов. В данной работе мы не обозначаем тромбопластины, показавшие «полярные» значения во избежание конфликта интересов. Однако удивительно, что разница минимального и максимального значений МНО в одном из наблюдений (№ 5) составила величину 4,1 (в диапазоне от 2,6 до 6,7). По другим наблюдениям, различия также оказались значительными и заслуживающими внимания.

Отметим, что используемый в работе нашего центра новый жидкий тромбопластиновый реагент «Техпластин» продемонстрировал сравнительно хорошие результаты. Он неизменно находился близко к центру диапазона МНО, измеренного у всех обследованных больных.

Клиницисты и специалисты в области лабораторной диагностики ожидают точности, воспроизводимости и информативности лабораторного мониторинга антикоагулянтного действия принимаемых доз варфарина или его производных. Однако этот вопрос по прежнему остается в числе проблемных.

Выводы

Использование индекса чувствительности тромбопластина с вычислением показателя МНО не позволяет избежать различий при оценке результатов ПТ в случае использования различных тромбопластинов у пациентов, получающих непрямые антикоагулянты.

Использование разных приборов и принципов регистрации коагуляции повышает вариацию результатов ПТ.

Рекомендуемые нормальные значения протромбинового времени, указанные фирмой-производителем тромбопластина, следует использовать лишь для ориентировочной оценки, поскольку его результаты зависят от техники выполнения исследований, серии реагента и ряда других факторов.

Список литературы

1. *Кушелевский Б. П. //Очерки по антикоагулянтной терапии. М.: Медгиз.— 1958.— 170 С.*
2. *Ольбинская Л. И., Гофман А. М. /Лечение и профилактика тромбозов.— М.: Вагриус, 2000.— 196 С.;*
3. *Савельев В. С., Чазов Е. И., Гусев Е. И. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений. // Флебология.—2010.—Т. 4, № 1.— Выпуск 2.— С. 2-37.*
4. *Момот А. П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики.— СПб., Изд-во «Форма Т», 2006.—208 С.*
5. *Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. // В кн.: Монография.— Издание 3-е. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2008.—292 С.*
6. *WHO Expert Committee on Biological Standardisation. 33rd Report Tech. Rep. Ser. 687.— P. 81-105, Geneva: WHO.— 1983.*
7. *Hirsh J., Fuster V., Ansell J., Halperin J.L. // American Heart Association / American College of Cardiology Foundation Guide to Warfarin Therapy. // Circulation, 2003.— P. 1692-1711.*
8. *Practical Hemostasis and Thrombosis.— 2nd ed. // Ed. by N. Key, M. Makris., D. Or Shaughnessy, D. Liliicrap.— Oxford: Wiley-Blackwell publishing Ltd., 2009.— 311 p.*
9. *Laboratory Hemostasis. A practical Guide for Pathologists. // Ed. by S. T. Bennet, C.M. Lehman, G.M. Rodgers.— USA: Springer, 2007.—237 p.*