

РЕЗЮМЕ

доклада на заседании Президиума СО РАМН 27 января 2010 г.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ КРИТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА

А.П. Момот

Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН, Москва, Россия

SUMMARY

of a report at Presidium meeting SO RAMS 27 January 2010

PERSPECTIVE TENDENCIES IN DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF CRITICAL HEMOSTASIS DISTURBANCES

A.P. Momot

Altai Branch of Hematological Research Center RAMS, Moscow, Russia

Доклад посвящен проблемным вопросам клинической гемостазиологии, имеющей междисциплинарное значение для современной медицины. Теоретическая ценность учения о свертывании крови состоит в том, что патологические сдвиги в разных звеньях системы гемостаза встраиваются в качестве патогенетического звена в процесс развития наиболее тяжелых видов патологии человека. Очевидно, что изучение таких нарушений гемостаза способно помочь в борьбе с наиболее важными и опасными патологическими состояниями, такими как массивные кровотечения, тромбозмболии, синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдромом) и его масками – тромботической тромбоцитопенической пурпурой и катастрофическим антифосфолипидным синдромом.

Практическая значимость гемостазиологии определяется повышением эффективности лечения и профилактики тяжелых видов патологии при включении в комплексную терапию воздействий, направленных на коррекцию нарушений свертывания крови.

В рамках этих двух направлений, сформулированных основателем Алтайской школы гематологов и гемостазиологов, членом-корреспондентом РАМН, проф. З.С. Баркаганом, в Алтайском филиале Гематологического научного центра РАМН продолжаются работы по совершенствованию диагностики и лечения ряда распространенных заболеваний населения, проживающего на территории Сибири.

Результатами этих исследований, проведенных в последние годы, стали создание и апробация новых подходов к диагностике и лечению тяжелых нарушений в системе гемостаза и сопряженных с ними неотложных состояний. В частности, после того как выяснилось, что ведущим звеном патогенеза острого ДВС-синдрома является внутрисосудистое свертывание крови с истощением резерва физиологических антикоагулянтов, потреблением факторов свертывания крови и блокадой микроциркуляции, было определено, что основным методом патогенетической терапии должна быть заместительная терапия препаратами крови, устраняющая дисбаланс всех звеньев системы гемостаза (*Баркаган З.С., 1980-2005; Воробьев А.И., 1996*). В дальнейшем стратегически важным оказалось решение проблемы: какими компонентами крови следует воспользоваться для получения оптимального лечебного эффекта, поскольку переливание составляющих донорской крови сопряжено с риском трансфузионных осложнений. Массивные плазмо- и гемотрансфузии могут вести к инфицированию вирусами, избыточным гемодинамическим нагрузкам – интерстициальному отеку легких, ухудшению микроциркуляции и другим нарушениям гомеостаза. В рамках этой работы был подобран и апробирован (совместно с членом-корреспондентом РАМН, проф. Я.Н. Шойхетом) адекватный комплекс методов исследования системы гемостаза для диагностики, оценки степени тяжести острого ДВС-синдрома и определения потребности в заместительной гемотрансфузионной терапии с возмещением дефицита физиологических антикоагулянтов. Установлено решающее значение в этом активности антитромбина III и протеина С. Разработан и начал использоваться способ уменьшения гемоциркуляторной нагрузки при проведении заместительной терапии острого и подострого ДВС-синдрома свежемороженой плаз-

мой (СЗП) путем комбинации СЗП с препаратом антитромбина III (*Шойхет Я.Н., Момот А.П., 2009*).

ДВС-синдром часто манифестирует в клинике тяжелой кровоточивости, которая носит при этом синдроме смешанный, микроциркуляторно-гематомный характер. Особенно опасны такие кровотечения в акушерской практике, где они остаются одной из основных причин материнской смертности – до 20% (*Воробьев А.И., Городецкий Е.М., Шулутко Е.М., Васильев С.А., 2001; Радзинский В.Е., Костин И.Н., 2007; Jansen A. et al, 2005*). 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. Мы определили перспективным исследование новых возможностей фармакологических методов обеспечения гемостаза, в том числе с использованием активированных факторов свертывания.

Фактор VII как природного происхождения, так и виде рекомбинанта, играет ключевую роль в стимуляции гемостатических реакций у человека. В соответствии с современными представлениями, фактор VIIa способен прямо активировать фактор IX в IXa и фактор X в Xa после взаимодействия с тканевым фактором (ТФ) в месте повреждения эндотелия сосудистой стенки и, соответственно, в месте возникшего кровотечения. В настоящее время препарат рекомбинантного фактора VIIa (rVIIa, «НовоСевен») широко применяется у больных с геморрагическими диатезами для профилактики и купирования тяжелых кровотечений. В то же время рекомендации по его применению в акушерской и хирургической практике отсутствуют. Наше внимание привлекли зарубежные данные по эффективности rFVIIa в лечении массивных акушерских кровотечений (МАК), рефрактерных к традиционной консервативной терапии, которые были получены в ряде неконтролируемых и не рандомизированных исследований (*Franchini M et al, 2007; Vincent J. et al, 2006; Welsh A. et al, 2008*). Несмотря на имеющийся положительный опыт применения rFVIIa в лечении МАК имеются лишь отрыв-

вочные данные о его эффективности в зависимости от причины кровотечения, степени кровопотери и глубины дефектов в системе гемостаза. В настоящее время комплексные работы по фармакологической коррекции акушерских кровотечений выполняются в Алтайском филиале Гематологического научного центра РАМН и Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова. Нами получены данные о 52 пациентках с тяжелыми кровотечениями при беременности и в родах. В целом, полученные результаты показали, что rFVIIa является высокоэффективным гемостатическим средством в лечении женщин с жизнеугрожающими кровотечениями, которые не отвечают на традиционную гемостатическую терапию, предусматривающую использование концентрата тромбоцитов и СЗП. Эффект данного препарата объясняется способностью обеспечивать локальный гемостаз в месте повреждения сосудов, хотя детальные механизмы его действия изучены пока недостаточно. В соответствии с использованными в настоящей работе критериями эффективности оптимальный гемостатический эффект был определен у женщин с массивным источником (гипотоническим) кровотечением, где применение данной технологии позволило избежать гистерэктомии в 80,6% случаев, в сочетании с низкими перинатальными потерями (16,1%) и отсутствием летальных исходов. Следовательно, апробированная технология фармакологической коррекции гемостаза может рассматриваться при тяжелых маточных кровотечениях как органосберегающая.

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 в этих случаях могут быть объяснены резистентностью, в силу разных причин, свертывающей системы крови к активации избыточным количеством фактора VIIa (проявляемой по результатам протромбинового теста), а также наличием полиорганной недостаточности, которая привела в наших наблюдениях к неблагоприятному исходу у 4 из 7 беременных женщин. В рамках

этих исследований впервые был определен факт уменьшения антикоагулянтного потенциала (по активности антитромбина III – АТ III) при кровотечениях на фоне ДВС-синдрома и приема rFVIIa в среднем до 69,1%, что может рассматриваться как фактор высокого риска формирования или усиления органной дисфункции. В соответствии с современными рекомендациями снижение активности АТ III у больных ниже 70% при разных видах патологии требует проведения заместительной терапии с целью его возмещения до физиологической нормы (80-120%) (Баркаган З.С., 2005; Turecek P., 2000). Для преодоления дефицита АТ III в нашей работе использовались препарат «Антитромбин III человеческий» или свежемороженая плазма (СЗП). Учитывали, что массивные трансфузии последней (из расчета 20-25 мл/кг) могут привести к гиперволемии и интерстициальному отеку легких, особенно при наличии почечной недостаточности и при прекращении кровотечения. Определено, что оптимальной тактикой в этих ситуациях может быть применение коррекционно-заместительной терапии свежемороженой плазмой (в дозе 7-10 мл/кг) в сочетании с препаратом АТ III до восстановления активности последнего, ориентировочно до 100-120% от нормального уровня.

Отмечено, что в случаях сравнительно низкой гемостатической активности rFVIIa у женщин с акушерским ДВС-синдромом и МАК протромбиновое время свертывания (ПВ), по полученным данным, не укорачивалось, а в большинстве случаев удлинялось или оставалось на исходном, на время начала кровотечения, уровне. Таким образом впервые определено, что отсутствие укорочения ПВ в первые два часа после введения rFVIIa может служить прогнозом для его низкой гемостатической активности, а также малой результативности повторных инъекций препарата.

Другой не менее важной формой патологии гемостаза являются гематогенные тромбофилии, отечественная классификация которых была разработана проф. З.С. Баркаганом, и одобрена президиумом РАМН (1996). Реализация их тромботического потенциала происходит в виде ТЭЛА, системных тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов – наиболее ча-

стных вариантов сердечно-сосудистой патологии человека, удерживающих первое место среди причин инвалидизации и смертности населения.

В соответствии с современными представлениями к тромбофилиям относят нарушения гемостаза и гемореологии, характеризующиеся повышенной склонностью к развитию тромбов в кровеносных сосудах (Баркаган З.С., 2005). К настоящему времени выделено большое число первичных (генетически обусловленных) и вторичных (приобретенных) тромбофилий, отличающихся друг от друга по этиологии и характеру нарушений в системе гемостаза. Дифференциация этих форм патологии принципиально важна, поскольку разные виды тромбофилий, несмотря на сходные клинические проявления, требуют применения совершенно разных методов профилактики и лечения, апробированные в нашем центре на большом числе пациентов, проживающих на территории Сибири. Для скрининга одной из наиболее часто встречающихся тромбофилий, обусловленных дефицитом протеинов С и S или резистентности фактора Va к активированному протеину С, нами разработан аналог широко применяющегося за рубежом “Global-testa” теста. С этой целью был проведен поиск своего, «домашнего» активатора протеина С, аналога зарубежного диагностикума “Protak”. Для этого сотрудниками центра совместно с Новосибирским серпентарием была организована экспедиция на Дальний Восток для отлова разных видов щитомордника. В дальнейшем был проведен анализ фракций полученных образцов змеиного яда, что позволило успешно решить эту задачу (Способ получения активатора протеина С. Патент РФ № 2184976).

В нашем центре также разработан новый метод лабораторной диагностики, позволяющий определять патологические отклонения на конечном этапе свертывания крови (Способ определения времени самосборки фибрин-мономера. Патент РФ № 2366955). В основу метода положена коагулометрическая регистрация тромбинового времени свертывания в присутствии фиксированной концентрации ингибитора самосборки фибрин-мономера. Апробация данного метода у больных 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 (ТВ) показателями времени свертывания. Показано, что последний данный метод, в отличие от известных, позволяет выявлять дисфибриногемии и блоки на конечном этапе свертывания.

В течение последних 5 лет творческой группой центра созданы и зарегистрированы в МЗ РФ 4 диагностических тест-системы: 1. Набор контрольных реагентов крови для исследования гемостаза «Плазма-Контроль». РУ ФС № 29/25041102/6185-04; 2. Набор реагентов для определения антитромбина III «ХромоТех-Антитромбин». РУ ФС № 29/25040502/6186-04; 3. Набор реагентов для определения плазминогена «ХромоТех-Плазминоген». РУ ФС № 29/25040502/6186-04; 4. Набор реагентов для определения активности фактора VIII в плазме крови «Тех-Фактор VIII-тест». РУ ФС № 030112003/0635-04. Набор реагентов для оценки нарушений конечного этапа свертывания крови «Тех-Полимер-тест» находится в стадии доклинических испытаний и планируется к регистрации в 2010 г.

В рамках дальнейшего развития учения о гематогенных тромбофилиях с 2006 г. начато исследование распространенности ряда аллельных полиморфизмов для оценки риска развития тромботических осложнений, выделения групп пациентов высокой тромботической готовности и разработки комплекса методов первичной и вторичной профилактики тромбозов. В ходе этой работы (при финансировании Фондом обязательного медицинского страхования) обследованы 115 женщин с угрозой прерывания беременности, имеющие отягощенный акушерский анамнез (две и более неразвивающихся беременности раннего срока, самопроизвольные выкидыши в поздних сроках, преждевременные роды или антенатальную гибель плода) без явной гинекологической, инфекционной или эндокринной патологии. Все пациентки прошли анкетирование по разработанному нами алгоритму, что позволило провести учет клинико-anamnestических данных и отягощенного личного и/или семейного тромботи-

ческого анамнеза. Всего было проанализировано 217 беременностей и 180 случаев репродуктивных потерь.

Проводился анализ следующих аллельных вариантов: фактор V Лейден [Arg506Gln], мутация протромбина [20210 G/A], полиморфизм генов, кодирующих метилентетрагидрофолатредуктазу – МТГФР [Ala222Val] и ингибитор активатора плазминогена I типа (ПАИ-1) [-675 5G/4G]. В соответствии с полученными результатами у женщин с привычным невынашиванием беременности при молекулярно-генетическом тестировании частота аллельных полиморфизмов, обуславливающих тромбогенность, составила 83,4%. Преобладающим было носительство отдельных гетерозиготных вариантов полиморфизмов в генах метилентетрагидрофолат редуктазы (МТГФР) (34,9%) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа (ПАИ-1) (39,6%). Мультигенные формы тромбофилии были выявлены у 46,1% женщин, что в 10,2 раза превышало соответствующие показатели в контрольной группе. Комбинация двух генных дефектов выявлена у 36,5% обследованных (преимущественно МТГФР+ ПАИ-1), 3 вариантов – у 9,6% обследованных, причем в комбинации полиморфизма генов протромбина, МТГФР и ПАИ-1 – в 36,3% случаев и протромбина, ПАИ-1 и фактор V Лейден – также в 36,3% наблюдений. У женщин с невынашиванием беременности индивидуальный тромбофилический анамнез был выявлен в 28 (24,3%) случаях, в том числе в 2-х – при нормозиготе, у 11 (9,6%) – при носительстве одной генетической аномалии, у 8 (6,9%) – при двух генетических дефектах и у 7 (6,1%) – при сочетании трех тромбогенных аллельных полиморфизмов. Отягощенный семейный тромбофилический анамнез (инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу, тромбозы периферических сосудов) выявлен в 13% случаев при наличии одной аномалии, в 19% – при двух и в 7,8% – при сочетании трех генетических дефектов. Таким образом, в проведенной работе установлена прямая связь между невынашиванием беременности и различными вариантами генетически обусловленной тромбофилии. Определена роль врожденных форм тромбофилии и при выборе средств контрацепции. При оценке категории приемлемости для назначения гормональной контрацепции (со-

гласно рекомендациям ВОЗ, 2004 г.) были обследованы 87 женщин фертильного возраста, без патологии репродуктивной функции и при активном обращении с целью подбора адекватного метода контрацепции. Учет данных тестирования на вышеуказанные аллельные полиморфизмы позволил определить группы приемлемости для применения гормональной контрацепции: 32,2% женщин не имели противопоказаний для назначения эстроген-содержащих контрацептивов (ЭСК) (категория «1»), 8,1% составляли «2» категорию приемлемости и в 59,8% применение ЭСК оказалось не показанным (категория «4»). Таким образом, были очерчены важные противопоказания к приему эстрогеновых препаратов, позволяющие предотвратить развитие венозного тромбоза.

Определена частота встречаемости аллельных полиморфизмов, обуславливающих склонность к тромбозам, в случайной выборке жителей Алтайского края. К настоящему времени центром проведено генетическое обследование 962 подростков в возрасте 12-15 лет, проживающих в г. Барнауле и Алтайском крае. У 25,16% обследованных (n = 242) определены те или иные генетические маркеры тромбофилии, но лишь у 43 (4,47%) из них – в виде комбинации двух и более аллельных полиморфизмов, повышающих риск тромбообразования. Продолжение данной приоритетной работы в виде Российского мультицентрового исследования, предусматривающего создание защищенной базы данных по носительству тромбогенных ДНК-полиморфизмов, планируется совместно с ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздравсоцразвития РФ и ГУ «Научно-исследовательский институт терапии» СО РАМН. Получено согласие на участие в данной разработке детских гематологов 8 регионов РФ: Москвы, С.-Петербурга, Барнаула, Нижнего Новгорода, Рязани, Екатеринбурга, Краснодара и Красноярска.

Перспектива формирования группы врожденного тромбогенного риска до достижения совершеннолетия (генетическая паспортизация) могла бы лечь в основу разработки методов ранней профилактики сердечно-сосудистых заболеваний с созданием рекомендаций по предупреждению тромбозов при контрацепции, беременности, в родах, заместительной гормональ-

ной терапии и хирургических вмешательствах в онтогенезе, при занятиях игровыми видами спорта, связанными с повышенной возможностью травматизма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В Алтайском филиале ГНЦ РАМН проводятся многоплановые исследования по изучению патогенетического значения и типовых вариантов нарушений гемостаза при тромбозах и тромбоземболиях, массивных кровотечениях и ДВС-синдроме.

В продолжение учения о ДВС-синдроме усовершенствована технология заместительной терапии этого синдрома трансфузиями свежезамороженной плазмы в комбинации с препаратом антитромбина III. Применение данной технологии обеспечивает восстановление нарушенного гемостатического баланса наряду со снижением риска вирус-трансмиссивных инфекций и развития острого респираторного дистресс-синдрома.

Получены данные об эффективности использования рекомбинантного фактора VIIa у пациенток с тяжелой кровопотерей при беременности и в родах. Применение этой технологии при источниковых (коагулопатических) кровотечениях рассматривается как перспективное и органосберегающее.

Изучается роль носительства ряда аллельных полиморфизмов в развитии тромбозов. Установлено, что наибольший риск тромботических осложнений имеется в группе лиц с комбинированными вариантами тромбофилии. В этом направлении выполнены исследования по оценке противопоказаний к использованию эстроген-содержащих контрацептивов с учетом тромботической готовности женщин. Организовано проведение работ по оценке наличия и спектра наследственной патологии, обуславливающей склонность к тромбозам в случайной выборке у подростков – жителей Алтайского края.

В рамках совершенствования методологии диагностики основных видов нарушений гемостаза разработаны 4 новых метода и тест-системы для выявления основных видов патологии гемостаза.

Результаты исследований представлены в виде докладов на двух Международных конференциях и 18 Всероссийских съездах, конгрессах и конференциях. По материалам проведённых исследований за последние 5 лет опубликовано 108 работ в отечественной и зарубежной печати, 6 монографий и два руководства. Разработано два нормативно-методических документа, получено 9 патентов РФ на изобретение, защищены 11 кандидатских и 4 докторских диссертаций.