Тромбоз Гемостаз Реология

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Выпускается один раз в квартал
Основан в 2000 г.

Quaterly
Founded in 2000

№ 3

Октябрь 2005 г.

Учредитель: Е.В.Ройтман
Издатель: ООО «Гемостаз и реология» лиц. ИД № 05534
Журнал зарегистрирован Министерством печати и информации РФ
Свидетельство о регистрации ПИ №779636
Тираж 1500 экз.

Цена свободная
Подписной индекс РМК
для организаций — 3640
для индивидуальных подписчиков — 3639

Информационная поддержка: Интернет-сайт «Гемостаз и реология» *www.hemostas.ru*

Контактный адрес: *Е.В.Ройтман* — РНЦХ РАМН, Россия, 119992, Москва, Абрикосовский пер. 2;
Тел./факс: (095)248-0662, 8 903 144-4634, e-mail: **hemostas@aha.ru**

СОДЕРЖАНИЕ

Новости 3

Передовая

Д. В. Маршалов
Интегральная оценка степени тяжести акушерской кровопотери ... 5

Оригинальные исследования

З. С. Баркаган, Е. Ф. Котовщикова, Л. П. Цывкина, А. Н. Мамаев
Влияние тиенопиридиновых антиагрегантов на тромбоцитарное, коагулянтное и антикоагулянтное звенья гемостаза при лечении тромбозов и тромбофилий ... 10

Л. А. Ляпина, А. М. Ульянов, В. Е. Пасторова
Противосвертывающие и антидиабетогенные эффекты комплексного соединения гепарин-АТФ на фоне развития экспериментального диабета ... 16

М. А. Розенфельд, В. Б. Леонова, М. И. Бирюкова, О. Е. Неведрова, В. А. Макаров, А. А. Савин, В. В. Пшеничникова
Иммунолатексный диагностикум нового поколения для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) и тромбозов ... 20

В. Г. Стуров, А. В. Чуприна
Нарушения гемостаза при наследственных коллагенопатиях в рамках синдромов системной мезенхимальной дисплазии ... 24

Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева, Л. А. Иванова, Т. Н. Толстая, Е. В. Миронова
Влияние фраксипарина на реологические свойства крови и состояние микроциркуляции у больных с острым коронарным синдромом ... 31

А. А. Свистунов, А. П. Василенко
Нарушения сосудодвигательной и гемостазиологической функции эндотелия у больных ишемической болезнью сердца и их фармакологическая коррекция ... 36

Н. О. Сараева, Е. О. Андреева
Состояние системы гемостаза и анемия у больных множественной миеломой и хроническим миелолейкозом ... 39

М. В. Преснякова, А. Н. Сидоркина, В. Г. Сидоркин
Нарушения системы гемостаза в острый период ожоговой болезни ... 44

С. В. Багракова, Е. Н. Бырихин
Показатели гемостаза, реологические свойства крови и функциональное состояние эндотелия при остром венозном тромбозе вен нижних конечностей ... 53

Л. Г. Балыкбаева
Методы антикоагуляции при проведении заместительной почечной терапии у больных с ПОН и высоким риском развития кровотечения после операций на сердце и сосудах ... 57

Д. А. Басараб
Реперфузионные нарушения при критической ишемии тонкой кишки и их коррекция перфтораном ... 71

CONTENT

News 3

Leader

D. V. Marshalov
Integrated Estimation of Obstetrics Bloodloss Degree ... 5

Original papers

Z. S. Barkagan, E. F. Kotovschikova, L. P. Tsyvkina, A. N. Mamaev
Thienopiridins Antiaggregants in Thromboses and Thrombophilias Therapy ... 10

L. A. Lyapina, M. Uljanov, V. E. Pastorova
Anticoagulating and Antidiabetogenic Effects of Heparin-atp Complex On Background of Experimental Diabetes Mellitus Development ... 16

M. A. Rozenfeld, V. B. Leonova, M. I. Biryukova, O. E. Nevedrova, V. A. Makarov, A. A. Savin, V. V. Pshenichnikova
New Immunolatex Kit For Diagnostic Of Dic & Thrombosis ... 20

V. G. Sturov, A. V. Chuprova
Hemostasis Disorders under Hereditary Collagenopathy as Variant of System Mesenchyme Dysplasia Syndrome ... 24

E. E. Konstantinova, N. L. Tsapaeva, L. A. Ivanova, T. N. Tolstaya, E. V. Mironova
Fraxiparin Influence on Blood Rheological Properties and Microcirculation in Patients with Acute Coronary Syndrome ... 31

A. A. Svistounov, A. P. Vasilenko
Vasomotions and Hemostatic Endothelial Disorders in Patients with IHD and Pharmacological Approaches ... 36

N. O. Saraeva, E. O. Andreeva
Hemostasis and Anemia in Patients with Multiple Myeloma and Chronic Myeloid Leukemia ... 39

M. V. Presnyakova, A. N. Sidorkina, V. G. Sidorkin
Hemostatic Disorders During Acute Period After Burn ... 44

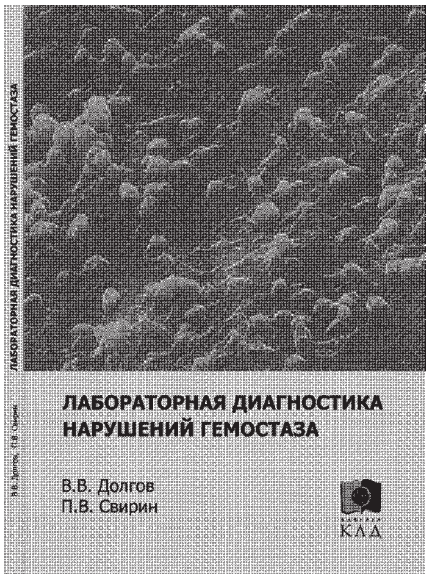
S. V. Bagrakova, E. N. Birikhin
Haemostasiological Parametrs, Hemorheology and Functional State of The Endothelium in Acute Venous Thrombosis Low Extremities ... 53

L. G. Balykbaeva
Methods of Anticoagulation During Renal Replacement Therapy in Patients with Pof and High Risk of Bleeding After Cardiac and vascular surgery ... 57

D. A. Basarab
Reperfusion Disorders under Critical Ischemia of Small Interstine and Perftoran Therapy ... 71

НОВОСТИ

Новая книга
В.В. Долгов, П.В. Свирин
«Лабораторная диагностика нарушений гемостаза»



Книга подготовлена в качестве руководства по исследованию системы гемостаза в клинико-диагностических лабораториях. В настоящем пособии система гемостаза рассматривается с различных точек зрения: общих биологических закономерностей функционирования многокомпонентных систем организма, патофизиологических механизмов нарушений процесса свертывания крови, строения и функции отдельных структур и компонентов системы гемостаза, методологических подходов, приборного обеспечения, стандартизации, контроля качества и других аспектов.

В книге изложены основы классической теории гемостаза, рассмотрены изменения, внесенные за последнее десятилетие. Имеется описание наиболее распространенных нарушений гемостаза, их теоретические аспекты, подходы к лечению и лабораторный контроль терапии.

Изложение материала сопровождается большим количеством иллюстраций. Материал подобран на основе многолетнего опыта преподавания вопросов лабораторной диагностики нарушений гемостаза на кафедре клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии последипломного образования.

Настоящая книга подготовлена совместно специалистом по клинической лабораторной диагностике и врачем-гемостазиологом. Надеемся, что изложенный материал, который во многом включил собственные навыки, умения, клинический опыт лечения детей с патологией гемостаза и многолетние навыки преподавания вопросов нарушения свертывания крови, будет полезен как врачам клинической лабораторной диагностики, так и врачам клиницистам.

Книга предназначена для специалистов клинической лабораторной диагностики, врачей клинических отделений, заинтересованных в лабораторной диагностике системы гемостаза и студентов медицинских ВУЗов.

Спонсором издания книги является компания «Эко-Мед-С» (генеральный директор Н. А. Ворошилов). Авторы искренне благодарны компании за поддержку данного издания.

Международная конференция
«Гемореология в Макро- и Микроциркуляции»

21–24 августа 2005 г. в г. Ярославле состоялась очередная V международная конференция «Гемореология в макро- и микроциркуляции», в работе которой приняли участие как российские специалисты, так и коллеги из ближнего и дальнего зарубежья.

На церемонии открытия 21 августа выступили проф. А. В. Муравьев (Ярославль), проф. Р. А. Ованесян (Ереван), проф. Н. П. Шилкина (Ярославль), проф. В. Ю. Лишневская (Киев). Выступившие подчеркнули важность форумов подобного рода и необходимость установления контактов между специалистами, работающими в данном направлении.

Заседание 22 августа началось с пленарной лекции проф. В. В. Якусевича «Поиск путей медикаментозной коррекции гемореологических нарушений

у кардиоваскулярных больных». Затем состоялся симпозиум «Гемореологические нарушения в клинике и их коррекция» под председательством проф. В. Г. Ионовой (Москва), проф. А. В. Муравьева (Ярославль) и проф. Н. Н. Фирсова (Москва), на которых с докладами выступили проф. Х. Рейд (Ямайка), проф. Р. А. Ованесян (Ереван), проф. Н. Н. Фирсов (Москва), проф. Г. Я. Левин (Нижний Новгород), проф. А. В. Муравьев (Ярославль), проф. И. А. Соколова (Москва), проф. А. Г. Гущин (Ярославль), Т. А. Блохина (Иваново). Симпозиум «Гемостаз, тромбоз и реология крови» возглавили проф. Е. В. Ройтман (Москва) и проф. В. Ю. Лишневская (Киев). Доклады по данному направлению были представлены председательствующими, а также В. В. Усыниным (Барнаул), Н. В. Яковлевым (Казань), Ю. В. Старцевой (Пермь).

В тот же день на симпозиуме «ЛДФ в диагностике нарушений микроциркуляции» под председательством В. В. Сидорова обсуждались общие вопросы использования данного метода как в экспериментальной, так и в клинической практике.

Проф. В. М. Кошкин (Москва) 23 августа открыл научное заседание пленарной лекцией «Лекарственная коррекция нарушений макро- и микроциркуляции при ХАН и ХВН». На последовавших симпозиумах «Гемореологические нарушения (методические и экспериментальные аспекты)» под председательством проф. В. Б. Кошелева (Москва) и проф. А. Г. Гущина (Ярославль) и «Микроциркуляция в норме и патологии» (предс. проф. В. М. Кошкин) были представлены доклады проф. В. Б. Кошелева (Москва), И. Ю. Смирнова (Кострома), проф. Н. Н. Фирсова (Москва), Т. В. Коротаевой (Москва), проф. В. М. Кошкина (Москва), В. П. Чижовой (Киев), М. Б. Гириной (Санкт-Петербург), проф. В. Ю. Лишневской (Киев).

Затем состоялись симпозиумы «ЛДФ в диагностике нарушений микроциркуляции (терапия и хирургия)», которые 24 августа завершились круглым столом и мастер-классом по проблемам применения ЛДФ в клинике и эксперименте (обсуждение методик применения ЛДФ и интерпретации результатов).

Круглый стол состоялся и по проблемам гемостаза и взаимосвязи с гемореологией.

На симпозиуме «Микрореология клеток крови» 24 августа были представлены доклады Е. Э. Константиновой (Минск), Ю. В. Старцевой (Пермь), А. С. Петроченко (Яросалавль), И. А. Тихомировой (Ярославль), Г. Я. Левина (Нижний Новгород).

После обсуждения стендовых докладов состоялся круглый стол по подведению итогов конференции и ее закрытие. Участники выразили благодарность организаторам и высказали свои предложения и пожелания по дальнейшей работе и представлению результатов в данной области научного исследования.

ПЕРЕДОВАЯ

Интегральная оценка степени тяжести акушерской кровопотери

Д. В. Маршалов

Городской центр клинической гемостазиологии г. Саратов, Россия.

Integrated Estimation Of Obstetrics Bloodloss Degree

D. V. Marshalov

Saratov' City Centre On Clinical Hemostasiology, Russia

Несмотря на значительные успехи в области профилактики и интенсивной терапии акушерских кровотечений, они остаются одним из основных осложнений в родах и причиной неблагоприятного исхода беременности, являясь актуальной проблемой, как акушерства, так и анестезиологии — реаниматологии [1, 2, 15].

Частота акушерских кровотечений в мире, по данным разных авторов, колеблется от 2,7 до 8% к общему числу родов [6].

В РФ акушерские кровотечения занимают среди причин материнской смертности одно из первых трех мест и встречаются примерно 1:10 000 родов, тогда как в развитых странах это соотношение на порядок меньше — 1:100 000 родов.

В некоторых странах доля акушерских кровотечений в структуре материнской смертности достигает 20–28% [4]. В России отмечается ее увеличение с 11,8% в 1994 году до 13,1% в 1998 году [10, 12]. При наиболее тяжелых кровотечениях, сопровождающихся развитием геморрагического шока, этот процент возрастает до 53,3–80% [11, 14].

При этом, большинство классификаций акушерской кровопотери, существующих на данный момент сориентированы, в первую очередь, на ее объемное значение, и не сопряжены с оценкой исходной резистентности организма беременной, что не менее важно, чем объективная оценка объема кровопотери, так как одинаковая по объемным значениям кровопотеря у разных пациентов может обеспечиваться путем различного по интенсивности напряжения систем жизнеобеспечения. Таким образом, не обеспечивается индивидуальный подход в ее оценке, что делает затруднительными рекомендации по профилактике и интенсивной терапии развившегося кровотечения.

В связи с этим остро встает вопрос интегральной оценки степени тяжести акушерской кровопотери в зависимости от исходного профиля индивидуальной резистентности беременной.

Нами предпринята попытка анализа нескольких, разработанных в нашей стране, наиболее авторитетных классификации акушерской кровопотери, выраженных в графическом варианте [5, 6, 7, 9, 13].

Е. М. Шифман и соавт. (2001), как показано на **рисунке 1**, в качестве основания деления выбрали два принципа: степень тяжести и наличие шока. При этом оба основания содержат идентичные члены деления, характеризующие объем кровопотери, невольно отождествляя, и дублируя друг друга.

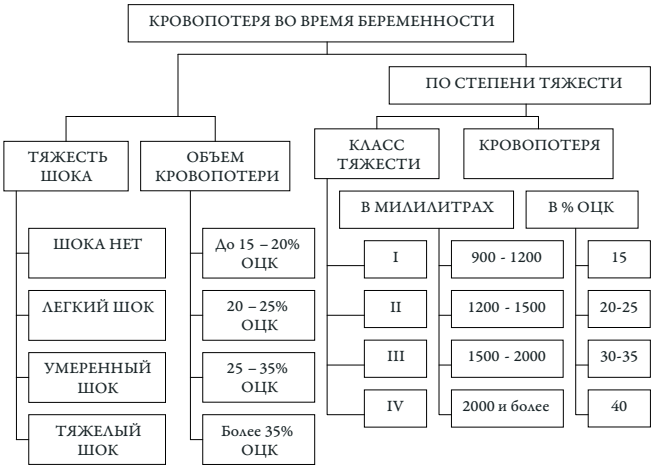


Рис. 1. Классификация акушерской кровопотери по Е. М. Шифману и соавт. (2001).

В. И. Кулаков и соавт. (2001) в основу деления АК положили ее объемные и временные характеристики (**Рис. 2**). Первое основание имеет три члена деления, два из которых отражают условия кровопотери и, поэтому, противоречат принципам основания деления. Второе основание не исчерпывает объем исходного понятия и имеет пустые классы основных членов деления.

Возможным прототипом описанных выше классификаций является модель (**Рис. 3**), предложенная *Я. А. Жизневским* (1994). Идейным пре-

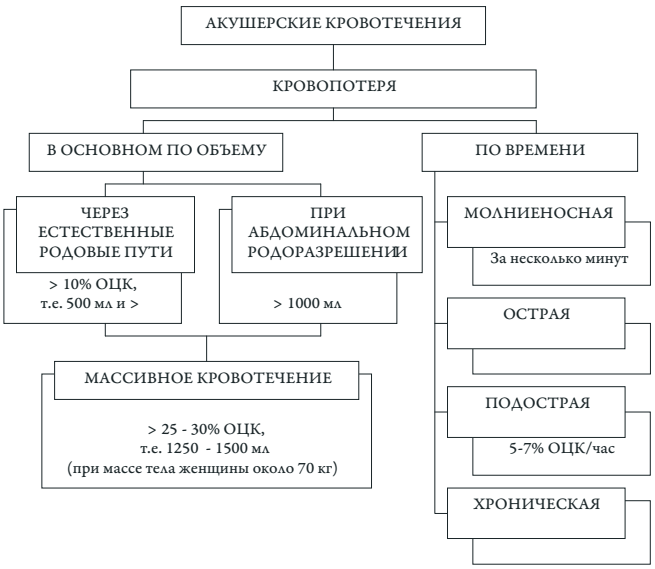


Рис. 2. Классификация акушерской кровопотери по В. И. Кулакову и соавт. (2001).

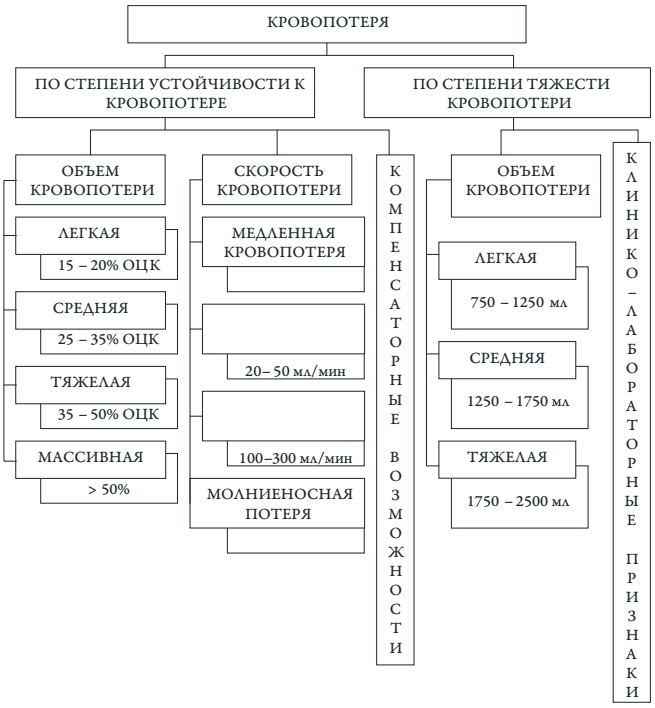


Рис. 3. Классификация кровопотери по Я. А. Жизневскому (1994).

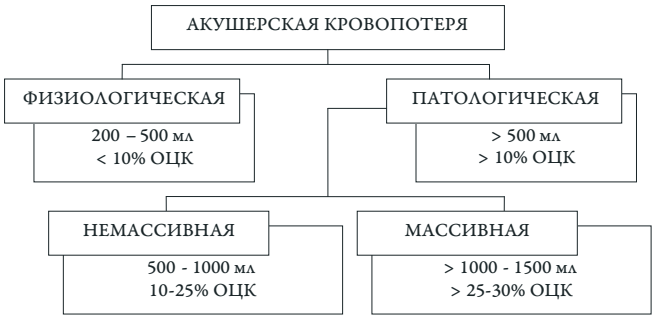


Рис. 4. Классификация акушерской кровопотери. (М. А. Репина, 1986; В. Н. Серов и соавт., 1989; В. И. Кулаков и соавт., 1998).

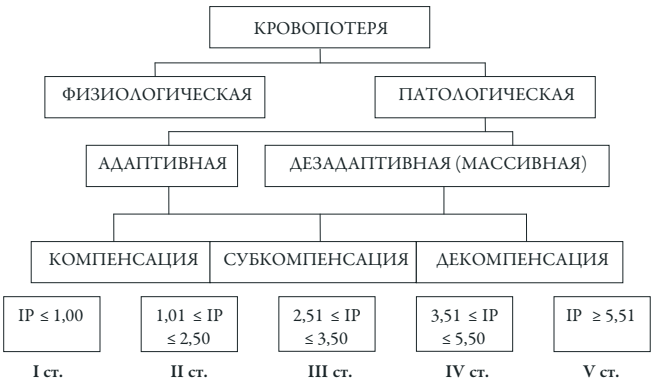


Рис. 5. Разработанная классификация акушерской кровопотери.

имуществом, на наш взгляд, данной классификации является попытка выделения в качестве основания деления не только объема кровопотери, но и степени устойчивости к ней. Однако сами указанные в дальнейшем члены деления, не имеют отношения к данному основанию по существу.

Следует отметить, что приведенные классификации, широко применяемые в акушерской практике, не являются специфичными для данной клинической дисциплины. Сугубо акушерским является деление кровопотери на физиологическую и патологическую (**Рис. 4**).

Под физиологической кровопотерей понимают кровопотерю объемом, соответствующего количеству крови, содержащегося в межворсинчатых пространствах (до 250 мл), не отражающейся на общем состоянии родильницы и не требующей включения компенсаторных механизмов организма [7]. Патологической, соответственно, считают кровопотерю, превышающую объем физиологической. Однако, пределы физиологической кровопотери в интерпретации различных авторов, имеют достаточно широкий размах значений. Патологическую кровопотерю, превышающую 1000–1500 мл или 25–30% ОЦК, принято считать массивной, как правило, сопровождающейся напряжением компенсаторных механизмов организма, а так же начальными и, нередко выраженными явлениями гиповолемического шока.

Таким образом, можно утверждать, что существуют общие черты, характерные для любой кровопотери, независимо от того, происходит ли она от внутреннего или наружного кровотечения, операции, способа родоразрешения, травмы или патологического процесса. Поэтому в первую очередь необходимо знать общее, что характеризует кровопотерю и позволяет дифференцировать патогенетические и патологические признаки, обуслов-

ленные собственной потерей крови, от наслоений, связанных с другими сопутствующими обстоятельствами — хирургической операцией, травмой или патологическим течением родов. Кровопотеря классифицируется как по величине, так и по тяжести наступающих изменений в организме пациента. То есть в классификации должны быть четко представлены два понятия: величина кровопотери и тяжесть постгеморрагических расстройств, оцениваемых в первую очередь по глубине развивающейся гиповолемии, обусловленной величиной потерянного объема циркулирующей крови. Тяжесть проявлений кровопотери зависит так же от сопутствующих факторов, в первую очередь от ее массивности, и эффективности включения компенсаторных процессов организма [3].

Для разработки методики оценки степени тяжести акушерской кровопотери, нами была создана система оценки исходного статуса беременной. Показатели соотнесены с уровнем сохранности компенсаторных механизмов при каждом из указанных факторов в бальном выражении (**Табл. 1**). Данная шкала может быть дополнена функциональными показателями, отображающими состояние функции сердечно-сосудистой, респираторной систем, ЦНС.

Имея исходные данные литературы, можно утверждать, что профиль индивидуальной резистентности посредством обратной связи сопряжен с двумя наиболее значимыми, «физиологическими константами» — с ОЦК и степенью способности к адаптации. Поэтому исследование зависимости указанных параметров у беременных представляет определенный интерес, что имеет не только познавательное, но и сугубо практическое значение, позволяя отдаленно прогнозировать объем и тяжесть геморрагических осложнений.

Опираясь на данные анализа обширной монографической и периодической литературы, посвященной исследованию патологического течения беременности, экстрагенитальной патологии, волемических нарушений при различной соматической и хирургической патологии, нами рассчитан и представлен в виде номограммы метод расчета пределов адаптивной кровопотери в родах («допустимой» кровопотери), с учетом профиля индивидуальной резистентности (**Рис. 5**).

Как следует из вышеизложенного, оценка таких показателей как «истинный ОЦК» и возможность организма противостоять стрессу с высокой долей вероятности может отражать реактивные

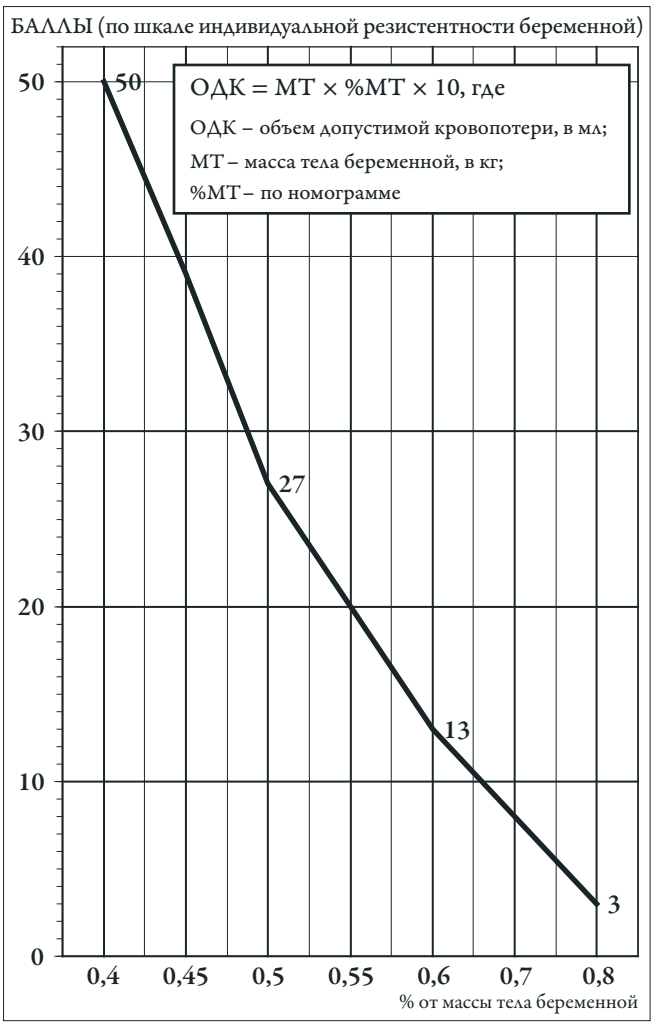


Рис. 6. Номограмма для определения объема допустимой кровопотери.

возможности организма в ответ на любую кровопотерю. В то же время, более информативной представляется оценка степени тяжести кровопотери по интегральному показателю, характеризующему обе константы одновременно. В качестве такого показателя может использоваться индекс превышения — IP, представляющий собой соотношение истинной и расчетно-допустимой кровопотери. Исходя из этих положений, мы пришли к следующему заключению: что тяжесть кровопотери должна оцениваться не из расчета к определенному абсолютному значению ОЦК, а из расчета превышения объема истинной кровопотери к ее допустимому значению.

IP = ОИК / ОДК, где:

ОИК — объем истинной кровопотери, в мл;

ОДК — объем допустимой кровопотери, в мл.

При физиологической кровопотере он не превышает 1 усл. Ед., при патологической адаптивной находится в пределах от 1,0 до 2,5 усл. Ед., а при дезадаптивной превышает эти значения.

Таблица 1.

Шкала индивидуальной резистентности беременной

Факторы		Оценка, баллы
I. Группа — Факторы групповой резистентности		
Возраст беременной (в годах):	<18	2
	18–19	1
	20–26	0
	27–32	2
	33–39	3
	≥40	4
Росто-весовое отношение:	Нормальные	0
	гипотрофия I степени	1
	ожирение I степени	2
	гипотрофия II степени	2
	ожирение II степени	3
	гипотрофия III степени	5
	ожирение III степени	5
	ожирение IV степени	6
II. Группа — Данные акушерско-гинекологического анамнеза		
Количество родов:	Не было	1
	1–2	0
	3–4	2
	5–7	4
	>8	5
Паритет родов (в годах):	<4	0
	4–7	1
	>8	2
Беременности, завершившиеся досрочно (аборты и преждевременные роды)	0	0
	1–2	1
	3–4	3
	5–7	5
	>8	7
Патологические изменения матки без признаков воспаления:	Отсутствует	0
	Врожденные пороки развития	3
Приобретенная патология (опухоли, послеоперационный рубец на матке)		
Опухоль размером (в диаметре) до 2 см или один рубец на матке		3
Опухоль размером (в диаметре) 2–4 см или повторный рубец на матке		5
Опухоль размером (в диаметре) 5 и более см, 3 и более рубец на матке		7
Патологические изменения матки воспалительного характера:	Полное излечение	1
	Стадия ремиссии	2
	Активный процесс	3

Факторы		Оценка, баллы
III. Группа — Экстрагенитальная патология беременной *(сердечно-сосудистой системы, легких, печени, почек, эндокринной системы, крови, хронические специфические инфекции*):*		
	Отсутствует	0
	В стадии компенсации	3
	Стадии субкомпенсации	7
	Стадии декомпенсации	14
IV. Группа — Осложнения данной беременности		
Угроза прерывания беременности на момент поступления в стационар:	Нет	0
	Есть	2
Факт кровянистых выделений из половых путей:	Нет	0
	Отмечались в первой половине беременности	3
	Во второй половине беременности	5
Гестоз:	Отсутствует	0
	Ранний	2
	Поздний:	
	Легкой степени тяжести	3
	Средней степени тяжести	5
	Тяжелый	7
Патология фето-плацентарных структур: Со стороны плаценты: Предлежание:	Нет	0
	Частичное	5
	Полное	7
Отслойка нормально расположенной плаценты:	Не диагностировано	0
	Была диагностирована ранее	5
	Прогрессирующая	7
Количество околоплодных вод:	Нормальное	0
	Многоводие	3
	Маловодие	3
Со стороны плода:	Крупный плод	3
	Многоплодие	7
Мертворождение: Анте-, интранатальная гибель плода		5

Примечание: ** — в случаях нескольких различных заболеваний, баллы суммируются*

Это позволило использовать данный критерий в качестве классификационного признака и тем самым привнести черты индивидуализации в оценку степени тяжести кровопотери (**Рис.6**).

- Физиологическая кровопотеря — объем крови выделившийся из половых путей женщины при физиологическом процессе родов, который не превышает уровня необходимого для перфузии межворсинчатого пространства, без включения адаптивно-приспособительных механизмов для поддержания эффективного объема циркулирующей крови и не требующий проведения лечебных мероприятий.
- Адаптивная акушерская кровопотеря — объем крови потерянной в процессе родоразрешения, реакция на который не превышает адаптивных возможностей организма женщины сформировавшихся к окончанию беременности, клинически не проявляющийся синдромом гиповолемии и не требующий мероприятий по интенсивной терапии ее восполнения.
- Дезадаптивная акушерская кровопотеря — объем крови потерянной в процессе родоразрешения, реакция на который превышает компенсаторные механизмы гиповолемии и требующий ее интенсивной медикаментозной коррекции.

Поскольку, в практической работе реаниматолога ориентация, на уже свершившиеся отклонения, существенно задерживает начало интенсивной терапии, считаем целесообразным рассматривать кровопотерю не только с точки зрения ее абсолютного значения, но и с позиций вызываемых ею сопряженных функциональных сдвигов. Наши исследования показали, что предлагаемый в качестве критерия оценки степени тяжести кровопотери — IP более объективно отражает состояние тяжести пациентки с акушерской кровопотерей. С помощью бальной оценки профиля индивидуальной резистентности можно получить объективное представление об исходном статусе беременной.

Практическое использование предложенной классификации позволяет четко определить группу пациенток по тяжести, сопоставить выраженность исходных и постгеморрагических волемических нарушений, а также определиться со стратегией и тактикой интенсивной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вартанов В. Я. и др. Интенсивная терапия при острой кровопотере в акушерской практике / В. Я. Вартанов, Е. М. Шифман, О. И. Линева, Н. Н. Хуторская. — Тольятти, 1997. — 44 с.*
2. *Герасимович Г. И., Колгушкина Т. Н., Можейко Л. Ф. Акушерские кровотечения. Экстренная помощь. — Мн.: Выш. шк., 1997. — 66 с.*
3. *Голуб И. Е., Кузнецов С. М., Нетесин Е. С. Диагностика и оценка степени тяжести больных с кровотечениями //Вестн. интенс. терапии.–2003. — №4.–С.12–16.*
4. *Дуда И. В., Дуда В. И. Клиническое акушерство. Мн.: Выш. шк., 1997. — 604 с.*
5. *Жизневский Я. А. Основы инфузионной терапии. — Мн.: Вышэйшая школа, 1994. — 288 с.*
6. *Кулаков В. И. и др. Акушерские кровотечения / В. И. Кулаков, В. Н. Серов, А. М. Абубакирова, И. И. Баранов. — М.: «Триада — Х», 1998. — 96 с.*
7. *Репина М. А. Кровотечения в акушерской практике. — М.: Медицина, 1986. — 176 с.*
8. *Серов В. Н., Макасцария А. Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. — М.: Медицина, 1987. — 288 с.*
9. *Серов В. Н., Стрижаков А. Н., Маркин С. А. Практическое акушерство: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 1989. — 512 с.*
10. *Серов В. Н., Фролова О. Г., Токова З. З. Основные причины материнской смертности в последние 5 лет // Проблемы беременности. — 2001. — № 3. — С. 15-19.*
11. *Сидорова И. С. Поздний гестоз. — М.: Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, 1996. — 224 с.*
12. *Фролова О. Г., Токова З. З., Ильичева И. А. Региональные особенности причин материнской смертности в России //Мать и дитя: Тез. докл. IV Российского форума. — М.: МИК, 2002. — Часть 1. — С. 127-128.*
13. *Шифман Е. М., Тиканадзе А. Д., Вартанов В. Я. Инфузионно-трансфузионная терапия в акушерстве. — Петрозаводск.: ИнтелТек, 2001. — 304 с.*
14. *Mattar F., Sibai B. M. Eclampsia — VIII. Risk factors for maternal morbidity // Amer. J. Obstet. Gynec.– 2000.– Vol.182, №2.–P.307–312.*
15. *Zeeman G. G., Wendel G. D. Jr., Cunningham F. G. A blueprint for obstetric critical care //Am. J. Obstet. Gynecol. — 2003. — Vol.188, № 2. — P. 532-536.*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние тиенопиридиновых антиагрегантов на тромбоцитарное, коагулянтное и антикоагулянтное звенья гемостаза при лечении тромбозов и тромбофилий

З. С. Баркаган, Е. Ф. Котовщикова, Л. П. Цывкина, А. Н. Мамаев
Алтайский филиал ГНЦ РАМН, Барнаул

Thienopiridins Antiaggregants In Thromboses And Thrombophilias Therapy

Z. S. Barkagan, E. F. Kotovschikova, L. P. Tsyvkina, A. N. Mamaev
Altay Branch Of Hematological Research Centre Of RAMS, Barnaul

The research work is about the influence of the tienopyridins upon clotting hemostasis and anticoagulants in patients with thrombosises and different thrombophilias. The data about advantages of clopidogrel are presented in comparison with ticlopidine. For the first time showed the influence of clopidogrel on anticoagulants and clotting hemostasis. It was revealed rise of antithrombin III, and clotting deceleration in a test with exogenous coagulase.

Повышенная активность тромбоцитов (активация адгезивности и агрегационных свойств) по современным представлениям является важнейшим пусковым механизмом тромбообразования. Важная роль отводится тромбоцитам в образовании артериальных тромбозов, в силу чего антиагреганты всегда включаются в комплексную терапию коронарной болезни сердца (КБС), ишемий мозга и инсультов, облитерирующих заболеваний артерий конечностей (ОЗАК), в том числе диабетической ангиопатии. Однако наши исследования показали, что повышенная адгезивность и агрегация тромбоцитов свойственна не только артериопатиям, но и тромбофилическим состояниям, характеризующимся наклонностью к рецидивирующим венозным тромбозам, в том числе связанным с резистентностью факторов свертывания к физиологическим антикоагулянтам, дефицитом последних (антитромбина III, протеинов С и S), а также с неполноценностью фибринолитической (плазминовой) системы [1, 2, 6, 7].

В настоящее время ингибиторы функции тромбоцитов включаются в комплексную терапию практически всех разновидностей тромботического процесса, в связи с этим при лечении тромбофилических состояний используются сочетания антиагрегантов с антикоагулянтами, ангиопротекторами.

В течение многих лет главным, экономически более доступным и наиболее широко применяемым ингибитором функции тромбоцитов был и остается аспирин. При КБС и других сосудистых заболеваниях он остается до наших дней «золотым стандартом» антиагрегантной профилактики и терапии.

Однако, ограниченное ингибирующее влияние аспирина лишь на отдельные функции тромбоцитов и его неспособность подавлять адгезию этих клеток к субэндотелию (коллагену) и тромбин-агрегацию, а также достаточно высокая частота пациентов с полной или почти полной аспиринорезистентностью, которая по данным ряда авторов, в том числе и нашим, обнаруживается в возрасте до 40 лет в 46,6% случаях, от 40 до 60 лет в 40% и после 60 лет в 18% [4, 6, 11], позволили обосновать следующие два постулата: I) применение аспирина (многомесячное, а подчас и многолетнее) не должно проводиться вслепую, т. е. без контроля за тем, действует ли этот препарат на функцию тромбоцитов; 2) при наличии аспиринорезистентности, а также при необходимости более широкого подавления функции кровяных пластинок должны назначаться другие, более эффективные и надежные антиагреганты.

Наиболее доступными и эффективными оказались тиенопиридины — препараты, оказывающие стабильное и достаточно разностороннее ингибирующее влияние на агрегационную функцию тромбоцитов (АФТ).

Основными представителями этой группы препаратов являются тиклопидин (тиклид) и клопидогрель (плавикс) [5, 6, 8–10,12]. Оба они подавляют не только адреналин-, но и АДФ- и коллаген-агрегацию тромбоцитов. Однако указанные эффекты достигаются разными дозами препаратов. Важно и то, что они подавляют АФТ в разные

Таблица 1.

Распределение больных, получавших тиенопиридины, по видам патологии

Виды тромбофилий	Число больных		ВСЕГО	
	На тиклопидине *(n=43)*	На клопидогреле *(n=71)*	количество	%
Синдром вязких тромбоцитов	3	7	10	8,8
Гипергомоцистеинемия	10	16	26	22,8
Резистентность фактора Va к активированному протеину С	3	6	9	7,9
Дефицит антитромбина III	1	2	3	2,6
Дефицит протеина С	-	3	3	2,6
Антифосфолипидный синдром	4	7	11	9,6
Полиглобулия	10	5	15	13,2
Комбинированные формы	12	25	37	32,5
ВСЕГО:	43	71	114	100

сроки от начала лечения. Так, тиклопидин, применяемый в стандартной дозе 500 мг в день, ингибирует АФТ лишь на 5–6 день от начала приема препарата, поскольку его эффект связан с действием медленно образующихся метаболитов этого препарата. Такое запаздывание эффекта делает невозможным быстрое подавление АФТ при остро протекающих сосудисто-тромботических процессах, в частности при КБС и тромботических инсультах. Терапия тиклопидином нередко осложняется и побочными эффектами, среди которых наиболее значимы лейкопения (вплоть до агранулоцитоза), дерматит, желудочно-кишечные нарушения.

Клопидогрель остается в настоящее время самым эффекивным и лишенным побочных действий препаратом, действующим в значительно меньших дозах (75 мг/сутки). Следует отметить, что при начальной ударной дозе (150 мг) он ингибирует АФТ уже на следующий день после начала приема препарата.

Ниже представлены в результаты сравнительного испытания влияния тиклопидина и различных доз клопидогреля на функцию тромбоцитов и некоторые параметры коагуляционного и антикоагулянтного звеньев гемостаза у больных с гиперагрегационным синдромом различного генеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 114 больных с исходно повышенной спонтанной и индуцированной агрегацией тромбоцитов. Из этих больных 43 получали терапию тиклопидином (группа I) и 71 — плавиксом (группа 2) (**таблица 1**). Возрастной состав больных в обеих группах был примерно одинаков. Средний возраст больных группы 1 составил 44±2,8 лет, больных группы 2 — 42±2,4 лет. Контрольную группу составили 114 здоровых лиц того же возраста. На всех этапах работы исследование больных и лиц контрольной группы проводилось одновременно в прямом сопоставлении.

Распределение обследованных больных по видам тромботического процесса представлено в **таблице 2**.

Тиклопидин назначался больным в стандартной суточной дозе по 500 мг в день. Клопидогрель применялся как в стандартной, рекомендованной фирмой дозе (по 75 мг/день), так и в сниженных в 2 и 4 раза дозах под контролем АФТ. В последнем случае больные с 4 дня лечения переводились на половинную дозу препарата (37 мг/день), а затем в части наблюдений — на четверть стандартной дозы (19 мг/день). Продолжительность приема препаратов варьировала от 1 до 3 месяцев у 29 больных, от 6 до 12 месяцев — у 27 больных, от 1 до 1,5 лет — у 11 больных.

Исследования агрегационной функции тромбоцитов проводились на агрегометрах «Инфра-4» и «Биола»: индуцированная АДФ — 1×10^{-5} М, коллагеном — 3 мг/мл и адреналином — 10 мкг/мл [3], а также мануально-спонтанная агрегация тромбоцитов по Н. И. Тарасовой. Наряду с оценкой показателей тромбоцитарного гемостаза нами была проведена оценка влияния клопидогреля на коагуляционный гемостаз (общие коагуляционные тесты, в том числе протромбиновое время и время

Таблица 2.

Частота и локализация тромбозов у больных до лечения тиенопиридинами

Виды патологии	Число тромботических эпизодов	
	На тиклопидине *(n=43)*	На клопидогреле *(n=71)*
1. Флеботромбозы:	24	41
из них с ТЭЛА	4	9
2. КБС:	8	9
из них с АКШ	-	5
3. Артериальные тромбозы:		
нижних конечностей	1	4
верхних конечностей	-	2
4. Сочетание венозных и артериальных тромбозов	-	5
5. ОНМК	2	8
6. Атеросклеротическое поражение сосудов нижних конечностей	1	18
ВСЕГО:	40	101

Таблица 3.

Показатели агрегации тромбоцитов при лечении тиенопиридинами

Препараты	Спонтанная агрегация	АДФ-агрегация	Адреналин-агрегация	Коллаген-агрегация
Контроль *(n=114)*	12,1±0,1	65,4±0,5	68,2±0,6	68,4±0,8
До лечения тиклопидином *(n=45)*	34,2±0,6	80,1±1,4	81,1±1,0	81,2±1,6
ч/з 10 дней *(n=43)*	18,1±0,4	53,4±1,1	50,2±1,4	58,3±1,6
ч/з 1 месяц *(n=43)*	15,4±0,5	46,5±1,2	45,3±1,5	56,6±1,4
До лечения клопидогрелем *(n=71)*:	36,1±0,5	81,6±2,5	80,9±2,0	75,4±2,6
75 мг/день *(n=30)*	15,3±0,4	45,0±1,5	46,8±1,6	40,4±1,8
37 мг/день *(n=41)*, 10-ый день	12,1±0,3	32,9±0,6	34,7±0,6	41,4±0,7
37 мг/день *(n=30)*, 30-ый день	13,2±0,5	35,2±0,8	38,2±0,8	42,2±0,7
19 мг/день ч/з 1 месяц *(n=11)*	14,9±1,1	34,1±1,6	38,2±1,4	44,5±2,4
19 мг/день ч/з 3 месяца *(n=11)*	14,9±0,9	37,5±2,0	40,5±2,3	43,8±2,1

свертывания с ядом эфы по Л. П. Цывкиной и соавт.(1977) и активность плазменного антитромбина III (принцип *Abildgaard et al.* и с использованием хромогенных субстратов).

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ

Используя полученные результаты исследования, определяли закон распределения в исследуемых группах. Для проверки закона распределения использовали метод Колмогорова-Смирнова. Распределение во всех исследуемых группах больных и в контрольной группе оказалось нормальным, что дало основание провести статистическую обработку результатов исследования вариационным анализом. Все результаты в данном исследовании представлены в виде X±m, где X — средняя арифметическая, m — ошибка средней арифметической. Число обследованных больных в группах представлено в разделе «Материалы и методы», а также в представленных таблицах.

Наличие различий в исследуемых группах определяли дисперсионным анализом. Достоверность различий исследуемых выборочных данных определяли при помощи критерия Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05. При множественных сравнениях применяли поправку

Таблица 4.

Побочные явления у больных, получающих различные тиенопиридины

Осложнения	На тиклопидине	%	На клопидогреле	%
Агранулоцитоз	1	2,3	0	0
Тошнота, рвота	6	14,0	0	0
Аллергическая сыпь	1	2,3	0	0
Геморрагические осложнения	2*	4,7	3**	4,2

*Примечание: * — на дозе 500 мг/день, ** — на дозе 75 мг/день*

Таблица 5.

Показатели активности плазменного антитромбина III у больных, получавших различные дозы клопидогреля и тиклопидин, при приеме препаратов более года

Группы обследованных	Активность антитромбина III		P_{1-2}
	Метод Abildgaard (1)	На хромогенных субстратах (2)	
Контроль *(n=114)*	98,1±0,9	99,7±1,0	>0,05
До лечения *(n=114)*	97,4±1,1	99,9±1,4	>0,05
Клопидогрель 19 мг/день *(n=11)*	98,1±5,2	99,1±5,8	>0,05
Клопидогрель 37мг/день *(n=30)*	120,0±2,2	118,6±2,6	>0,05
Клопидогрель 75мг/день *(n=30)*	141,2±2,4	120,8±2,2	<0,001
Тиклопидин 500 мг/день *(n=43)*	97,2±3,6	107,2±3,2	>0,05

Бонферони для уточнения достоверности различий. Кроме того, при выполнении множественных сравнений с контрольной группой применяли критерий Данета. Для устранения резко отличающихся (выскакивающих) результатов применяли критерий Шовене.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 и 2 представлено распределение больных по видам патологии с учетом ведущих нарушений гемостаза. У всех этих больных были повышены показатели как спонтанной, так и индуцированной агрегации тромбоцитов, что иллюстрирует **таблица 3**. Под влиянием как тиклопидина, так и клопидогреля у больных наблюдались нормализация спонтанной агрегации тромбоцитов и снижение до нормальных показателей всех исследовавшихся видов индуцированной агрегации.

Указанное снижение агрегации тромбоцитов под влиянием тиенопиридинов наблюдалось как при первичном гиперагрегационном синдроме (синдром вязких тромбоцитов), так и при вторичном гиперагрегационном синдроме.

Клопидогрель вызывал в дозе 75 мг/день более значительное снижение всех видов агрегации тромбоцитов, чем тиклопидин в дозе 500 мг/день (**таблица 3**). При этом депрессия функции тромбоцитов при лечении плавиксом регистрировалась намного раньше, чем при лечении тиклопидином (соответственно на 3 и на 6 день).

Таким образом, выяснилось, что в начальной фазе лечения клопидогрель вызывает более раннее и более глубокое снижение АФТ, чем тиклопидин.

При дальнейшем приеме препаратов эта депрессия АФТ сохраняется. Однако, в наших исследованиях выяснилось, что гипофункция тромбоцитов может поддерживаться при лечении клопидогрелем даже половинной дозой препарата, т. е. при применении его в дозе 37 мг/день. Более того, в значительной части случаев такая депрессия сохраняется при применении четверти рекомендуемой дозы препарата, т. е.19 мг/день (**таблица 3**). Такой эффект был отмечен у всех 11 больных, получавших эту небольшую дозу препарата. На наш взгляд, необходимо дальнейшее изучение терапевтического применения таких сверхнизких доз клопидогреля.

При всех исследовавшихся нами видах тромбофилий случаи резистентности АФТ к тиенопиридиновым препаратам или недостаточного их эффекта зарегистрированы не были. Возможность поддерживать ингибицию АФТ с помощью небольших доз клопидогреля делает такое лечение намного менее затратным и позволяет проводить его более длительно.

Таблица 6.

Влияние различных доз клопидогреля и тиклопидина на эхитоксовое время при приеме этих препаратов более года.

Лечение разными дозами тиенопиридинов	Эхитоксовое время		P
	До лечения	После лечения	
Клопидогрель 19 мг/день *(n=11)*	23,4±1,4	28,4±1,8	<0,05
Клопидогрель 37 мг/день *(n=11)*	22,9±1,2	29,7±1,7	<0,001
Клопидогрель 75мг/день *(n=30)*	25,2±0,7	37,7±0,9*	<0,001
Тиклопидин 500 мг/день *(n=43)*	25,5±0,8	26,4±0,6	>0,05
Контроль *(n=31)*	25,8±1,2		-

*Примечание: * — различия достоверны (P<0,001) в сравнении с контролем*

Особо следует отметить, что включение клопидогреля в медикаментозную терапию больных, подвергающихся аортокоронарному шунтированию (АКШ) и балонной ангиопластике в комплексе с фраксипарином оказалось также высоко эффективным. Ни одного случая ретромбоза или нарушения функции шунта мы не зарегистрировали.

Данные о побочных эффектах терапии тиклопидином и клопидогрелем приведены в **таблице 4**. Из нее видно, что в наших наблюдениях тиклопидин давал существенно большее число побочных явлений, чем клопидогрель. Лишь кровоточивость в виде петехий, геморрагий из десен и в одном случае меноррагий проявлялись с одинаковой частотой при приеме обоих препаратов в рекомендовавшихся фирмой дозах. Однако при переводе больных на половинную дозу клопидогреля геморрагические проявления нами ни разу не были зарегистрированы.

При анализе влияния тиенопиридинов на коагуляционное и антикоагулянтное звенья системы гемостаза нами впервые была выявлена неизвестная ранее закономерность – повышение уровня активности плазменного антитромбина III (АТ-III) и замедление свертывания в тесте с ядом эфы у больных, длительно, более трех месяцев получавших клопидогрель. Между тем, при лечении тиклопидином аналогичных изменений нами выявлено не было. Так, клопидогрель в «полной» дозе (75 мг/день) достоверно повышал уровень активности плазменного антитромбина III (**таблица 5**). Особенно четко этот эффект был выявлен нами при использовании метода *Abildgaard* для определения уровня активности плазменного антитромбина III. Однако при тромбофилиях с дефицитом АТ- III существенного повышения последнего при лечении клопидогрелем нами выявлено не было.

Это неизвестное ранее свойство клопидогреля повышать активность плазменного антитромбина III, отмеченное нами впервые в отечественной и зарубежной литературе, реализуется при лечении только «полной» дозой препарата, рекомендуемой фирмой-производителем, однако не озвучено в аннотациях и инструкциях по применению клопидогреля. Версией, объясняющей повышение уровня АТ- III при лечении клопидогрелем, может быть предположение о самостоятельном, не связанном с влиянием на тромбоциты, воздействии препарата на антикоагулянтное звено гемостаза.

Второй, неизвестной ранее закономерностью, является выявленный нами гипокоагуляционный сдвиг в тесте с ядом эфы у больных, получающих клопидогрель более года (**таблица 6**). Тест с ядом эфы (эхитоксовый тест, разработанный в нашем центре) — коагуляционная проба, характеризующаяся активацией гемокоагуляционного каскада экзогенными коагулазами яда змеи *Echis Carinatus* или *Echis multisguamatus*. Эти коагулазы обладают прямым влиянием на фактор II (протромбин) и трансформируют его, в отличие от естественного свертывания, не в α-тромбин, а в особый мейзотромбин (тромбин — Em), резистентный к действию комплекса «гепарин – АТ-III» и являющийся маркером генерализованного тромбообразования. В связи с вышесказанным, как показали наши многочисленные исследования, гиперкоагуляция в тесте с ядом эфы может служить критерием повышенного тромбогенного риска. Удлинение же в тесте с ядом эфы, в свою очередь, является показателем эффективности антитромботической терапии, направленной на купирование тромбинемии и ликвидацию тромбогенных сдвигов в коагуляционном звене гемостаза. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что клопидогрель в при длительном применении достоверно удлиняет параметры эхитоксового теста, т. е. обладает

гипокоагуляционным и антитромботическим влиянием на коагуляционное звено системы гемостаза, напоминая в этом смысле действие антикоагулянтных препаратов.

Поскольку протромбин (фактор II) вырабатывается гепатоцитами, мы проанализировали у больных, получающих клопидогрель, показания протромбинового теста и биохимических показателей печени для исключения гепатотоксического влияния препарата. Каких-либо отличий от контрольных значений показаний протромбинового теста нами у этих больных выявлено не было. Нарушений в биохимических пробах, в т. ч. повышения уровня ферментов не отмечалось, что позволило исключить токсическое влияние клопидогреля на белковообразующую функцию печени.

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют сделать следующие выводы:

Антиагрегантные препараты из группы тиенопиридинов надежнее аспирина устраняют гиперагрегационный синдром при тромбозах и тромбофилиях.

Клопидогрель вызывает депрессию функций тромбоцитов значительно быстрее, чем тиклопидин и дает значительно меньшее число осложнений, в том числе диспептических, аллергических, гипопластических и геморрагических.

При длительном использовании клопидогреля с антиагрегантной целью у большинства больных возможно эффективное применение половинной и даже четвертной суточной дозы препарата.

При длительном приеме клопидогреля происходит увеличение активности в плазме физиологического антикоагулянта антитромбина III. Это выявленное нами и неизвестное до настоящего времени в отечественной и зарубежной литературе свойство клопидогреля нуждается в дальнейшем изучении.

Клопидогрель тормозит скорость коагуляции в пробе с экзогенной коагулазой из яда змеи *Echis multisguamatus* (эхитоксовом тесте), что служит критерием снижения тромбогенного риска в гемокоагуляции.

Последние два неизвестных ранее свойства клопидогреля подтверждают оправданность широкого его использования для лечения и профилактики не только артериальных, обусловленных гиперактивностью тромбоцитов тромбозов, но и при венозном тромбоэмболизме, а также при всех известных в настоящее время тромбофилических состояний, что значительно расширяет сферу применения этого лекарственного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баркаган З. С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Пробл. 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., Момот А. П. Основы диагностики нарушений гемостаза.. – М: Ньюдиамед, 1999. — 217 с.*
4. *Баркаган З. С., Котовщикова Е. Ф. Причины успеха и неудач применения аспирина при ишемической болезни сердца. // В кн.: Актуальные проблемы кардиологии. — Томск, 1997. — С. 19-21.*
5. *Баркаган З. С., Котовщикова Е. Ф., Цывкина Л. П., Карпенко А. А., Субботин Ю. Г. Использование клопидогреля для профилактики тромбозов у больных с балонной ангиопластикой. // В кн.: У Сибирская научно-практическая конференция по актуальным вопросам кардиологии. — Красноярск, 2000. — С. 233-234.*
6. *Котовщикова Е. Ф. Диагностика и коррекция нарушений агрегационной функции тромбоцитов у больных с тромбофилиями различного генеза: Автореф. дис.... канд. мед. наук. — Барнаул, 1996. — 24 с.*
7. *Barkagan Z. S., Kotovshikova E. F., Tarasova N. I., Tsyvkina L. P. Aggregation function of blood platelets in patients with the various forms of thrombophilia. In: Haemostasia. — 15-th Internat. Congr. on Thrombosis. — Antalia, 1998. — Abstr. 360. — P. 410.*
8. *CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). // Lancet, 1996. — Vol. 348. — P. 1329-1339.*
9. *Gent M. Clopidogrel, a new potent Adenosine Diphosphate (ADP) — receptor antagonist for the prevention of myocardial infarction and Ischemic stroke. // Today's Therap. Trends. — 1998. — Vol. 36 (3) — P. 237-254.*
10. *Hass W. K., Easton J. D. (Eds.) Ticlopidine, Platelets and Vascular Disease. Springer-Verlag. — New-York, 1993.*
11. *Helgason C. M., Botin K. M., Hoff J. A. et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. -//Stroke, 1994. — Vol. 25. — P. 2331-2336.*
12. *McTanvish D., Paulds D., Goa K. L. Ticlopidin. An updated review of its pharmacology and therapeutic use in platelet-dependent disorders. // Drugs, 199O. — Vol. 40. — №. — P. 238-259.*
13. *Schafer A. I. Antiplatelet therapy. // Am. J. Med., 1996. — Vol. 101. — P. 199-209.*
14. *Vermylen J., Verhaeghe R. New platelet aggregation inhibitors. // Hamostaseology, 1997. — Bd. 17. — S. 43-48.*

Противосвертывающие и антидиабетогенные эффекты комплексного соединения Гепарин-АТФ на фоне развития экспериментального диабета

Л. А. Ляпина, А. М. Ульянов, В. Е. Пасторова

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, лаборатория защитных систем крови им. проф. Б. А. Кудряшова.

Anticoagulating and Antidiabetogenic Effects of Heparin-ATP Complex On Background of Experimental Diabetes Mellitus Development

L. A. Lyapina, M. Uljanov, V. E. Pastorova

Lomonosov Moscow State University, Biological faculty, Chair of physiology of human and animal. Laboratory of protective systems of blood

It the process of the development of experimental *(alloxan)* diabetes it was established definite answer in the hemostase system — the increase of anticoagulanting, fibrinolytic, antiplatelet, fibrindepolymerization properties of rat blood plasma after multiple during 4 days injection of the complex compaund of heparin with ATP (molecular proportion 1:1) and the ATP separatly.

The anticoagulant effect of the complex was higher than the same of the ATP. It was demonstrated the therapeutical action of the complex which is directed on the restoration of the insular system disturbances at the diabetes mellitus of animals.

Keywords: *Heparin — Adenosinthreephosphat — Anticoagulant — Fibrinolysis — Diabetes mellitus — Platelet aggregation*

Аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) играет ведущую роль в основе обеспечения жизнедеятельности организма. В организме в течение суток перерабатывается количество АТФ, равное половине массы тела [9, 11]. На наружной поверхности клеточных мембран найдены специфические рецепторы, чувствительные к молекуле АТФ, в связи с чем интенсивно изучается триггерное (регуляторное) действие АТФ на различные функции организма. АТФ служит эндогенным внутриклеточным и межклеточным регулятором метаболизма глюкозы, жирных кислот и др. [3, 8], функции которого направлены на защиту клеток от повреждающего действия гипоксии. АТФ обладает выраженным антиадренергическим действием, играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса, влияет на сократимость сердечной мышцы и проводящую систему сердца [3, 13]. Установлено также, что АТФ в организме является биологическим комплексообразующим реагентом.

Поскольку АТФ участвует в метаболизме гексозаминов, входящих в состав гепариновой молекулы [7] и содержится в тех же источниках, что и гепарин [14], возникло предположение о возможности взаимодействия между АТФ и гепарином и участия этого эндогенного комплексного соединения как в процессах гемостатической, так и инсулярной систем организма.

Ранее установлено, что инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) сопровождается угнетением функциональной активности противосвертывающей системы (ПСС), что обусловливает значительную частоту тромбообразования. Такое подавление функции ПСС при инсулинзависимом сахарном диабете наблюдается как у людей, так и у животных с экспериментальным сахарным диабетом [5].

Цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния экзогенного комплексного соединения гепарин-АТФ на функциональное состояние противосвертывающей и инсулярной систем организма и выявлении способности комплекса осуществлять терапевтический антисвертывающий и антидиабетогенный эффект в организме при угрозе тромбообразования и развития сахарного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали высокомолекулярный гепарин производства США «*Serva*», препарат натрия аденозинтрифосфата Львовского производства («Львовдиалек»), комплексное соединение гепарина с АТФ, полученное по разработанному нами методу при эквимолярных соотношениях компонентов [6].

В опытах *in vivo* использовано более 40 белых лабораторных крыс с массой тела 200–250 г (в возрасте 6–7 мес), содержащихся на обычном лабораторном рационе. Введение препаратов животным

Таблица 1

Показатели гемостаза (активированное частичное тромбопластиновое время — АЧТВ, суммарная — СФА и неферментативная фибринолитическая активность (НФ), активность активатора плазминогена — ААП, агрегация тромбоцитов в крови животных (крыс) через 4 дня после введения аллоксана.

Условия опыта	Показателя гемостаза				
	АЧТВ, с	СФА, мм^2	НФ, мм^2	ААП, с	Агрегация. тромбоцитов,%
Контроль — здоровые животные без введения аллоксана	23,6±0,6 *n=10*	24,0±3,8 *n=10*	15,6±1,6 *n=10*	9,5±0,6 *n=10*	100±0,6 *n=10*
Опыт — животные на фоне введенного аллоксана	36,0±1,7 *n=12, p<0,01*	36,2±2,6 *n=12, p<0,01*	24,4±1,3 *n=12, p<0,01*	3,4±0,6 *n=12, p<0,01*	250±14,4 *n=9, p<0,001*

производили внутримышечно. Взятие крови у животных на анализ осуществляли шприцем из *v. jugularis* с использованием в качестве консерванта 3,8%-ый раствора лимоннокислого натрия в соотношении кровь: консервант как 9:1. Образцы крови центрифугировали в разных режимах: для определении агрегации тромбоцитов — при 1000 x g в течение 5 мин и для проведения коагулологических тестов и уровня глюкозы крови — при 3000 x g в течение 10–12.

В плазме крови определяли показатели антикоагулянтной активности, факторов свертывания, фибринолиза и агрегации тромбоцитов: антикоагулянтную активность по тесту АЧТВ [4], суммарную и неферментативную фибринолитическую активность [10] с использованием нестабилизированного фибрина; активность тканевого активатора плазминогена [1]. Агрегацию тромбоцитов определяли по методу Берковского и др. [2] в плазме, обогащенной тромбоцитами с использованием 2–5 мкМ раствора АДФ в качестве агреганта; определение производили на агрегометре (производство МГУ) при регистрации минимального и максимального показателя изменений оптической плотности исследуемого образца.

Эксперимент проводили следующим образом. Диабет у животных вызывали однократной инъекцией в *v. jugularis* раствора аллоксана (фирма Spofa, Чехия) в дозе 37,5 мг/кг после 18–24-часового голодания животных. На 4-ые сутки после развития диабета у животных все крысы были разделены на 4 группы, которые получали внутримышечно в течение 4-х последующих дней препараты — 1-ая группа получала комплекс гепарин-АТФ в ежедневной дозе 1,5 мг/кг массы тела, 2-ая группа — гепарин, 3 группа — АТФ. Вторая и третья группы животных получали препараты в дозах, эквивалентных их содержанию в комплексе. 4-ая группа животных получали тем же способом по 0.4 мл ежедневно в течение 4-х дней 0,85%-ый раствор NaCl (растворитель препаратов). Показатели крови исследовали через 1 час после последнего 4-го введения, через 14 дней после введения аллоксана (т. е. через 7 дней после отмены препаратов). Уровень глюкозы в крови животных определяли до введения аллоксана животным, через 4 дня, 7 дней (т. е. через 4 дня после введения препаратов) и 14 дней после введения аллоксана.

Статистическая обработка данных была проведена по методу Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных, приведенных в **табл. 1**, через 4 дня после введения аллоксана у крыс показатели гемостаза имели тенденцию в сторону гиперкоагуляции. Так, антикоагулянтная активность (по тесту АЧТВ), суммарная (СФА) и неферментативная (НФ) фибринолитическая активности были снижены на 24–30%, активность тканевого активатора плазминогена уменьшилась на 50% по сравнению с теми же показателями у здоровых животных, не подвергавшихся воздействию аллоксана. Агрегация тромбоцитов была повышена на 12–25%. (**табл. 1**). В этих условиях у всех групп животных резко в 2,3–2,5 раз увеличился уровень глюкозы крови по сравнению с исходным уровнем.

Внутримышечное многократное введение как комплекса гепарин — АТФ, так и АТФ способствовало восстановлению антикоагулянтно-фибринолитического фона плазмы крови крыс до нормальных значений, отмечаемых у здоровых крыс, и даже проявлению антитромбоцитарных свойств плазмы крови в этих условиях (через 1 час после последнего 4-го введения) (**табл. 2**). При этом наблюдалось восстановление уровня глюкозы крови через 1 час

Таблица 2

Показатели гемостаза в плазме крови крыс с экспериментальным диабетом через 1 час после последнего внутримышечного введения в течение 4-х дней комплекса гепарин — АТФ в ежедневной дозе 280 мкг/ 350 г массы тела и его составных частей в эквивалентных дозах

Препарат	АЧТВ, сек	СФА, мм^2	НФ, мм^2	ААП, мм^2	Агрегация тромбоцитов, %
Комплекс гепарин-АТФ — 0,8 мг/кг	42±2,3**	36±1,5**	23,8±0,9**	17,6±0,8**	72±3,1*
АТФ — 0,76 мг/кг	34,2±1,0**	38±0,5**	20,4±0,9*	14,4±1,0*	45,2±1,5**
Гепарин — 0,04 мг/кг	29,7±1,3	30,6±1,7	20,4±0,8	16,0±0,9	88,1±6,7
0,85% раствор NaCl — контроль	28,2±0,9	22,6±0,9	15,0±1,2	6,8±0,7	100±5,5

*Примечание: статистические показатели в табл.1 и 2 рассчитаны относительно соответствующих проб контроля. Обозначения: ** — p<0,01; * — p<0,05.*

Таблица 3

Показатели гемостаза через 7 дней после отмены многократного в течение 4 дней внутримышечного введения комплекса гепарин-АТФ

Препараты	АЧТВ, сек	СФА, мм^2	НФ, мм^2	ААП, мм^2	Агрегация тромбоцитов, %
Комплекс, 1 мг/кг	39,2±2,1	35,5±1,1**	22,1±1,4*	17,6±0,9**	48,3±17,3**
АТФ	35,2±1,5	33,6±1,4**	22,0±0,9	9,3±1,0	40,0±13,5**
Гепарин	29,9±1,6	27,6±0,9	19,2±0,7	9,0±0,7	89,6±6,1
0,85% раствор NaCl — контроль	28,0±0,9	25,4±0,9	15,3±1,4	4,4±0,9	100±4,5

*Примечание: статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля. Обозначения: ** — p<0,01; * — p<0,05.*

после последнего введения комплекса на фоне развития диабета до 75,5 мг%. Следует отметить, что в этот период после введения АТФ уровень сахара снизился со 178,4 до 114,7 мг%, хотя еще и не достигал исходного уровня (75,3 мг%). После введения гепарина и NaCl уровень сахара в этот период все еще оставался высоким (**табл. 4**). Через 7 дней после отмены препаратов комплекса и АТФ отмечалось полное восстановление показателей противосвертывающей системы (АЧТВ, СФА, НФ, активность тканевого активатора плазминогена) до нормальных значений, характерных для здоровых животных. При этом показатели тромбоцитарного звена гемостаза (агрегация тромбоцитов) свидетельствовали о восстановлении агрегации тромбоцитов до нормальных значений, так как агрегация тромбоцитов в плазме крыс, получавших как комплекс, так и АТФ, приближалась к этому показателю у здоровых крыс. После введения гепарина в дозе, эквивалентной его содержанию в комплексе, агрегация тромбоцитов все еще превышала нормальный уровень здоровых животных (**табл. 3**). Во всех исследуемых группах сахар крови при этом достоверно сохранялся на уровне, наблюдаемом через 4 дня после введения препаратов (**табл. 4**).

Анализируя представленный материал, можно с уверенностью говорить о перспективности использования комплекса гепарина с АТФ в качестве антикоагулянтно-фибринолитического и антидиабетогенного препарата. Комплекс оказывает противосвертывающий эффект не только при внутривенном, но и при внутримышечном введении. Причем фибринолитическое действие и антитромбоцитарный эффект после внутримышечного хронического введения комплекса сохраняется на протяжении 7–14 суток наблюдения. Возможно, это обусловлено присутствием в препарате комплекса гепарина, который способствует нормальному кровоснабжению тканей.

ВЫВОДЫ

1. Внутримышечное многократное введение животным комплекса гепарин-АТФ и одной АТФ приводило к однонаправленным изменениям в свертывании крови — увеличивались антикоагулянтная, фибринолитическая, фибриндеполимеризационная, антитромбоцитарная активности плазмы крови крыс.

Таблица 4

Показатели сахара в крови (мг%) в крови животных при развитии экспериментального аллоксанового диабета с последующим внутримышечным введением в течение 4-х дней комплекса гепарин-АТФ в ежедневной дозе 280 мкг/350 г массы тела крысы и его составных частей в эквивалентных дозах и в различные сроки после отменой препаратов

Препараты	Концентрация сахара в крови (мг%)					
	Исходная	Время после введения (сутки)		Время после отмены препаратов		
		аллоксана — на 4-ые сутки	препаратов — на 4-ые сутки	Через 7 суток	Через 14 суток	Через 30 суток
Комплекс	72,8±2,3 *n=8*	241,0±37,3 *n=8* $p_1<0,001$ $p_2>0,2$	75,5±3,4 *n=8* $p_1>0,5$ $p_2<0,001$	79,5±4,4 *n=8* $p_1>0,5$ $p_2<0,001$	78,5±5,1 *n=7* $p_1>0,5$ $p_2<0,001$	92,1±9,3 *n=7* $p_1>0,05$ $p2<0,001$
АТФ	75,3±2,7 *n=9*	178,4±9,0 *n=9* $p_1<0,001$ $p_2>0,1$	114,7±5,4 *n=9* $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	113,3±4,5 *n=9* $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	120,1±7,2 *n=8* $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	137,2±6,9 *n=8* $p_1<0,001$ $p2<0,001$
Гепарин	80,0±3,6 *n=9*	215,1±32,8 *n=9* $p_1<0,001$ $p_2>0,5$	202,0±22,0 *n=9* $p_1<0,001$ $p_2>0,2$	190,5±16,3 *n=8* $p_1<0,001$ $p_2>0,2$	210,9±20,1 *n=8* $p_1<0,001$ $p_2>0,5$	225,4±18 *n=8* $p_1<0,001$ $p2>0,5$
0,85% раствор NaCl — контроль	78,0±2,5 *n=9*	206,6±19,3 *n=9* $p_1<0,001$	224,7±15,7 *n=9* $p_1<0,001$	221,3±11,7 *n=9* $p_1<0,001$	230,5±14,5 *n=8* $p_1<0,001$	219,5±15,1 *n=8* $p_1<0,001$

Примечание: статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля

2. Комплекс гепарин — АТФ способен оказывать лечебное гипогликемическое действие при его многократном внутримышечном введении животным с развивающимся сахарным диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баркаган З. С., Мамот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М., Ньюдиамед. — 2001. — 285 с.*
2. *Берковский А. Л., Васильев С. А., Жердева Л. В., Козлов А. А., Мазуров А. В., Сергеева Е. В. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов. — М., НПО «Ренам». — 2001. — С.3-28.*
3. *Видаль Справочник. Лекарственные препараты в России. Справочник. — М.: OVPEE, АстраФарм-Сервис. — 2000. — 1408 с.*
4. *Долгов В. В., Авдеева Н. А., Щетникович К. А. Методы исследования гемостаза. Пособие для врачей клинической лабораторной диагностики. — М., Изд-во мин-ва здравоохранения и мед. промышленности РФ. — 1996. — 58 с.*
5. *Кудряшов Б. А. Токсическое действие метаболита — « диабетогенного фактора» в организме при развитии инсулинзависимого диабета // Известия АН, сер. биологическая. — 1993. — № 5. — С.694 — 791.*
6. *Ляпина Л. А., Пасторова В. Е., Николаева Л. С. Гемостазиологическая характеристика комплекса гепарина с аденозинтрифосфатом (АТФ) // Известия АН, сер. биологическая. — 2005. — № 2. — С.1 — 4.*
7. *Марри З., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. — М., Мир — 1993. — Т.1. — С.181 -275.*
8. *Browse D. I., Mathie R. T., Benjamin I. S., Alexander B. The role of ATP and adenosine in the control of hepatic blood flow in the rabbit liver in vivo // Comp. Hepatol. — 2003. — V.2. — P.2-9.*
9. *Kellerman P. S. Exogenous adenosine triphosphate (ATP) preserves proximal tubule microfilament structure and function in vivo in a maleic acid model of ATP depletion // J. Clin. Invest. — 1993. — V.92. — №4. — P. 1940-1949.*
10. *Kudrjashov B. A., Lyapina L. A. Nonenzymatic fibrinolysis and its role in the organism. In book: Thrombosis and thrombolysis. Ed. Chazov, E. I., Smirnov V. N. Consultants Bureau (New York). — 1986. — P.33-65.*
11. *Kugelgen I, Allgaier C., Schober A., Starke K. Co-realise of noradrenaline and ATP from cultured sympathetic neurons // Neuroscience. — 1994. — V.61. — №. — P.199-202.*
12. *McKay E. J., Laurell G. D., The interaction of heparin with plasma proteins. Demonstration of different binding sites for antithrombin III complexes and antithrombin III / / J. Lab. clin. med. — 1980. — V. 95. — №1. — P. 69-80.*
13. *Pearson J. D., Carleton G. S., Gordon J. L., Metabolisme of adenine nucleotides by ectoenzymes of vascular endothelial and smooth-muskle cells in culture// Biochem. J. — 1980. — V.190. — P. 491-429.*
14. *Rabenstein D. L. Heparin and heparan sulfate: structure and function// Nat. Prod. Rep. — 2002. — V.19. — P.312-331.*

Иммунолатексный диагностикум нового поколения для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) и тромбозов

М. А. Розенфельд, В. Б. Леонова, М. И. Бирюкова, О. Е. Неведрова, В. А. Макаров, А. А. Савин, В. В. Пшеничникова

Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Гематологический научный центр РАМН, Московский Государственный медико-стоматологический университет, Москва

New Immunolatex Kit For Diagnostic Of DIC & Thrombosis

M. A. Rozenfeld, V. B. Leonova, M. I. Biryukova, O. E. Nevedrova, V. A. Makarov, A. A. Savin, V. V. Pshenichnikova

Institut of biochemical physics named by Emanuel RAS, Hematological Research Center RAMS, Moscow State Medical-Stomatology University, Moscow

The purpose of the present work consist in creation and approbation of the original immunolatex kit for definition of fibrin/fibrinogen degradation products of at the patients with DIC.

Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром) наряду с тромбозами являются наиболее распространенными и опасными формами клинической патологии системы свертывания крови, частота возникновения которых имеет явную тенденцию к росту в последние годы [1]. Более 20 видов базисных заболеваний, сопровождается возникновением ДВС-синдрома, среди них наиболее распространены сердечно-сосудистые, онкологические, инфекционно-септические, акушерско-гинекологические, различные виды шока и т.д. Свидетельством опасных для жизни последствий развития ДВС-синдрома является высокая летальность. По статистическим данным ВОЗ показатели летальности при ДВС-синдроме составляют в среднем 50%, колеблясь от 30–76% [2]. Все это указывает на то, что своевременная диагностика этого чрезвычайно распространенного и неспецифического заболевания ставится в ряд наиболее важных и актуальных проблем современной медицины. Среди многообразия коагулологических методов, направленных на диагносцирование ДВС-синдрома и тромбозов, особую значимость имеет определение продуктов деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) в сыворотке крови больных с помощью иммунолатексного диагностикума, поскольку при подобных патологиях концентрация ПДФ в крови больного резко возрастает от 10 мкг/мл (норма) до 80–100 мкг/мл и выше [3]. Отечественных экспресс-тестов, позволяющих оценивать развитие патологических процессов тромбообразования и диссеминированного внутрисосудистого свертывания, нет. Авторами был создан иммунолатексный диагностикум нового поколения повышенной чувствительности — ПДФ-тест, предназначенный для количественного определения продуктов деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) в сыворотке крови человека, наличие которых свидетельствует о возникновении и развитии патологий системы свертывания крови [4].

Иммунолатексные диагностикумы представляют собой взвесь частиц полимерного носителя, на поверхность которых иммобилизованы специфические белки (антитела к фибриногену и ПДФ), способные к избирательному взаимодействию с продуктами деградации фибрина/фибриногена, присутствующими в образцах сыворотки крови больных. Такое взаимодействие приводит к наглядному склеиванию, т. е. к агглютинации латексных частиц. Наряду с большими преимуществами перед другими клинико-лабораторными методами определения (чувствительность, специфичность, а главное быстрота и простота выполнения) иммунолатексные диагностикумы имеют недостаток, связанный с процессом десорбции иммобилизованного специфического белка, что ведет к снижению чувствительности определения. Обычно при приготовлении иммунолатексного диагностикума полимерным носителем являются сферические частицы полистирольного латекса, поверхность которых модифицирована различными химическими группами (CH_3–, CH_3COO–, Zn^{2+} и т.д.) для достижения более надежной адсорбции белков [5]. После иммобилизации специфического белка на полимер на поверхности полистирольных частиц остаются вакантные центры связывания, которые необходимо заполнить балластным белком для обеспечения строгой специфичности определения. В качестве балластного белка стандартно используется бычий сывороточный альбумин

(БСА) [6]. БСА — ярко выраженный гидрофильный белок, способный хорошо взаимодействовать с ионогенными группами, расположенными на поверхности полимера. Однако он не проявляет сродства к неполярным группировкам полистирольного латекса, и поэтому для более полного насыщения свободных центров связывания приходится использовать его в больших количествах, чем иммобилизуемый белок (концентрация БСА 5–10 мг/мл, концентрация антител < 0.5 мг/мл) [7, 8]. Использование высоких концентраций БСА приводит к конкуренции между альбумином и специфическим белком за центры связывания и вызывает нежелательную десорбцию с поверхности полистирола уже иммобилизованных антител в раствор. Участие десорбированного специфического белка в реакции антиген — антитело, протекающей не на поверхности латексных частиц, а в растворе существенно снижает пределы максимально возможной чувствительности создаваемых диагностикумов. В то же время в исследуемых образцах сыворотки крови, в которых проводится определение ПДФ, содержатся вещества как повышающие вязкость раствора, так и обладающие высокой адгезивной способностью, например, липиды, иммунные комплексы, стероиды, криоглобулины и др. Так как эти вещества способны вызывать неспецифическое склеивание латексных частиц, т. е. провоцировать ложноположительный результат, то специфичность определения в большой мере зависит от степени разведения образца, что в свою очередь лимитируется чувствительностью диагностикума. Создав иммунолатексные диагностикумы с более высокой чувствительностью (менее 1 мкг/мл), можно проводить определения в более разбавленных пробах, что будет препятствовать возникновению неспецифической агглютинации, и таким образом получать более надежные достоверные результаты.

Одним из возможных путей увеличения чувствительности иммунолатексных диагностикумов является снижение десорбции с поверхности полистирола иммобилизованного специфического белка. Для достижения этой цели авторы в процессе получения диагностикума использовали вместо бычьего сывороточного альбумина (БСА) α-казеин крупного рогатого скота, который как большинство белков, обладает положительно заряженными ионогенными группами и способен взаимодействовать с отрицательно заряженными группами, распложенными на поверхности модифицированного (карбоксилированного) полистирольного латекса. С другой стороны, α-казеин проявляет сильно выраженный гидрофобный характер, что позволяет ему также прочно связываться и с неполярными участками поверхности частиц латекса. Таким образом α-казеин способен обеспечивать полное заполнение вакантных центров связывания полистирольного латекса при концентрациях на порядок ниже, чем это требуется при использовании БСА, что в свою очередь уменьшает десорбцию специфического белка с поверхности носителя, и приводит к увеличению чувствительности диагностикума, а также к повышению его стабильности, т. е. увеличению срока его применения [9]. Наряду с более высокими адгезивными свойствами α-казеина по сравнению с БСА, он так же устойчив при хранении в растворе как и альбумин. Теоретически не существует ограничений применения α-казеина в качестве балластного белка в иммунодиагностикумах на основе карбоксилированного полистирольного латекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 10% суспензию карбоксилированного полистирольного латекса с диаметром частиц 0,5 мкм (Санкт-Петербург, Россия); препараты α-казеина («*Sigma*», США); тромбина («*Roche*», Франция); фибриноген, полученный из цитратной плазмы крови и очищенный от примесей плазминогена и фибринстабилизирующего фактора [10]; *lys*-плазминоген выделеный из донорской плазмы крови человека методом аффинной хроматографии на лизин-сефарозе 4В («*Pharmacia*», Швеция) [11] и активированный стрептокиназой («*Behringwerke*», Германия). Активность препарата составляла 5,6 к. е. на мг белка. Продукты деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) выделяли ионообменной хроматографией из плазминового гидролизата фибриногена или мономерного фибрина на КМ-сефадексе С-50 [12]. Гомогенность полученных препаратов проверяли методом электрофореза в полиакриламидном геле. Концентрация используемого в качестве стандартного препапрата ПДФ составила 100 мкг/мл. Антитела к фибриногену и фрагменту Е были получены методом иммуноаффинной хроматографии из γ-глобулиновой фракции соответствующих поликлональных антисывороток [13] на специфичных иммуносорбентах: фибриноген-сефарозе и фрагмент Е-сефарозе, предварительно приготовленных. Концентрация полученных антител рав-

нялась для антифибриногеновых — 9 мг/мл; для анти-Е — 4мг/мл. Перекрестных реакций с белками сыворотки крови человека не наблюдалось.

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОЛАТЕКСНОГО ДИАГНОСТИКУМА (ПДФ-ТЕСТА)

Иммобилизация белков на поверхность частиц полистирольного латекса. Для иммобилизации в качестве полимерной матрицы использовался карбоксилированный полистирольный латекс. К 1мл заранее приготовленной 2% суспензии латекса в 0.1М глициновом буфере рН 8,2 (далее именуется как Буфер) добавляли равный объем (1мл) этого же буферного раствора, содержащего антитела к фибриногену человека и к фрагменту Е в соотношении 2:1, суммарная концентрация которых варьировала в диапазоне 50–500 мкг/мл для каждой порции латекса. Смесь тщательно встряхивали и помещали в термостат при 37°С на 120мин. Насыщение центров связывания специфичным белком на поверхность латексных частиц определяли с помощью седиментационного анализа, по изменению концентрации антител в надосадочной жидкости. Оптимальной концентрацией раствора антител, применяемой для иммобилизации, оказалась 300 мкг/мл, то есть 200 мкг антифибриногеновых и 100 мкг анти-Е антител. Связывание оставшихся свободных центров на поверхности латексных частиц осуществляли с помощью α-казеина.

Приготовление раствора α-казеина. 10 мг α-казеина растворяли в 1 мл 0.1 М глициновом буфере рН 8,2, прогревали 30 минут при 37°С, затем раствор осветляли центрифугированием 15 мин при 5000 об/мин в настольной центрифуге.

Иммобилизация балластного белка. После инкубации латексной суспензии с антителами (300 мкг) в смесь добавляли равный объем (2 мл) раствора α-казеина. Концентрацию α-казеина подбирали экспериментально. Критерием его оптимальной концентрации служила постановка реакции агглютинации готовой латексной суспензии с буферным раствором, а также со стандартным раствором ПДФ. Контрольная проба в отсутствии антител должна быть строго отрицательной при максимальной чувствительности диагностикума. Концентрация α-казеина, равная 0,4 мг/мл (0,08 мл исходного раствора α-казеина и 1,92 мл буфера), удовлетворяла данным требованиям. Смесь латексной суспензии с раствором α-казеина тщательно встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 30 минут, после чего помещали в холодильник (+4°С). Через 24 часа иммунодиагностикум был готов. Таким образом концентрация латексной суспензии в диагностикуме составляла 0,5%, конечная концентрация иммобилизованных антител к фибриногену 50 мкг/мл, к фрагменту Е — 25 мкг/мл, а концентрация α-казеина — 0.2 мг/мл.

Определение чувствительности полученного диагностикума. Стандартный препарат ПДФ с концентрацией 100 мкг/мл титровали кратно двум в Буферном растворе: 1:2, 1:4, 1:8 и т.д. Реакцию проводили на стекле. Каплю объёмом 10 мкл каждого разведения переносили на стекло, к каждой добавляли равный объём латексной суспензии иммунодиагностикума, тщательно перемешивали стеклянной палочкой. За агглютинацией наблюдали, осторожно покачивая стекло. Реакцию учитывали визуально через 2–3 минуты. При положительной реакции — латексные частицы склеиваются между собой в виде белых хлопьев с просветлением капли, при отрицательной — склеивания частиц не происходит, капля состоит из однородной взвеси латексных частиц, напоминая молоко. При постановке реакции всегда делали контрольную отрицательную пробу: раствор ПДФ заменяли буфером. Чувствительность диагностикума определялась как произведение исходной концентрации стандарта ПДФ раствора на то разведение образца стандартного препарата ПДФ, которое даёт последнюю положительную реакцию с латексной суспензией (фактор разведения).

Расчет чувствительности полученного препарата: исходная концентрация стандартного препарата ПДФ — 100 мкг/мл; фактор разведения — 1:128; чувствительность — 100 мкг/мл × 1/128 = 0,8 мкг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для количественного определения ПДФ использовали сыворотку крови 12 здоровых доноров и 15 больных людей, из которых 10 человек имели диагноз вторичный гнойный рецидивирующий менингит и 5 человек — нарушение мозгового кровообращения. ДВС-синдром был верифицирован у всех больных по известным клиническим и лабораторным критериям [1, 14]. Результаты исследований оригинального диагностикума сравнивали с данными, полученными при использовании диагностикума «*Fibro-Tec*» (фирмы «*Behring*», Германия) на тех же образцах сыворотки.

Таблица 1.

Определение содержания ПДФ в сыворотке крови

Содержание ПДФ в мкг/мл			
Оригинальный иммунодиагностикум		***Fibro-Tec***	
здоровые доноры	больные	здоровые доноры	больные
от 0,7 до 1,4	от 21,0 до 22,4	от 0,6 до 1,2	от 18,0 до 19,2

Ход определения. Для получения сыворотки в кровь здоровых доноров и больных добавляли раствора смеси ЕАКК и тромбина из расчета 0,05 мл на 1 мл крови. Кровь осторожно перемешивали, выдерживали 40 минут при 37°С и центрифугировали при 3000 об/мин. Полученные образцы сыворотки разводили буфером, содержащем 0,1 М глицин, 0,15 М хлорид натрия, pH 8,2 в соотношении 1:2, 1:4, 1:8 и т.д. 10 мкл каждого разведения сыворотки переносили на стекло и к нему добавляли равное количество латексной суспензии так, чтобы объем пробы не превышал 0,01 мл, осторожно перемешиваем палочкой. Агглютинацию фиксировали визуально через 2–3 минуты, осторожно покачивая стекло. При исследовании сыворотки крови здоровых доноров (отрицательная реакция образца) склеивание частиц не происходило и капля состояла из однородной взвеси латексных частиц, напоминая молоко. При использовании сыворотки крови больных происходило склеивание латексных частиц между собой в виде белых хлопьев с просветлением капли (положительная реакция образца). При исследовании образцов сыворотки параллельно каждый раз делали контрольную пробу: латекс добавляли к буферу. Здесь наблюдали отрицательную реакцию. Концентрацию ПДФ определяли как произведение чувствительности диагностикума на значение того разведения исследуемого образца сыворотки, которое давало положительную реакцию с латексной суспензией. Предлагаемый нами диагностикум обладает чувствительностью 0,7 мкг/мл.

Результаты экспериментов представлены в **таблице 1**.

Из **таблицы 1** видно, что при исследовании сыворотки крови здоровых доноров наблюдали положительную реакцию без разбавления сыворотки буфером, а также в некоторых случаях при разведении 1:2, что соответствует 0,7–1,4 мкг/мл ПДФ. С сывороткой крови больных наблюдали положительную реакцию при разведении 1:32, что соответствует содержанию 22,4 мкг/мл ПДФ. Исследования тех же образцов сыворотки больных с помощью диагностикума «*Fibro-Tec*», чувствительность которого 0,6 мкг/мл, при разведении 1:32 количество ПДФ составило 19,2 мкг/мл.

Таким образом, из приведенных данных видно, что результаты, полученные при использовании обоих диагностикумов, дают сопоставимые результаты, что позволяет определить менее 1 мкг ПДФ даже в небольшом количестве сыворотки (менее 1 мл). Применение латексного иммунодиагностикума позволяет не использовать дорогостоящее лабораторное оборудование; тест может быть выполнен в течение 5–10 минут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы был создан отечественный образец иммунолатексного диагностикума нового поколения для количественного определения продуктов деградации фибрина/фибриногена, в котором вместо традиционно используемого БСА в качестве балластного белка был применен адгезивный белок — α-казеин. Чувствительность диагностикума была увеличена до 0.8 мкг/мл. Это позволило проводить определения концентрации ПДФ при достаточно высоких разведениях исследуемых образцов сыворотки крови для избежания неспецифической агглютинации, часто возникающей из-за вязкости сыворотки и содержания в ней липидов и других веществ с высокой адгезивной способностью.

Физико-химические исследования показали, что полученный образец иммунолатексного диагностикума ПДФ-тест обладает характеристиками (повышенная чувствительность, стабильность) сопоставимыми с широко используемыми в клинической практике зарубежными аналогами.

Предварительные медико-биологические испытания ПДФ-теста выявили его пригодность в диагностике ДВС-синдрома, сопутствующего различным заболеваниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лычев В. Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. // М., Медицина. — 1993.*
2. *Баркаган З. С., Момот А. П. Основы диагностики нарушений гемостаза // Москва. — 1999.*

3. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н. Тица. // М., Лаб. Информ. — 1997.

4. Леонова В. Б.,. Розенфельд М. А Иммунодиагностикум на основе полистирольного латекса // патент № 2231366 от 27.06.2004

5. Новые методы иммуноанализа // М., Мир. — 1991.

6. Иммунологические методы / Под ред. М. Фримеля. // М., Мир. — 1978.

7. Rose N. R., Fridman A., Fahey M., Washington D. C. Manual of clinical laboratory immunology // American society for microbiolodgy. — 1986.

8. Hanson S., Mazer F., Klinifelter H. A. Clinical evaluation of a card agglutination test for rheumatoid factor // Am. J. Clin. Pathol. — 1980. — vol. 73.

9. Розенфельд М. А., Леонова В. Б. Разработка и создание иммунолатексного диагностикума нового поколения для выявления диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) и тромбозов // Конференция «Фундаментальные науки — медицине», Москва. — 2003. — с. 80–82.

10. Розенфельд М. А., Леонова В. Б., Бирюкова М. И., Васильева М. В., Костанова Е. А. // Док. Акад. Наук. — 1999. — т. 267, № 2. — с. 269-272.

11. Deutsch D. G., Mertz E. J // Science. — 1970. — vol. 170. — p.1095-1098.

12. Белицер В. О., Варецька Т. В., Цинкаловска С. М., Толстих В. М. // Укр. Биохим. Журн. — 1972. — т. 44, № 4. — с. 411-418.

13. Антитела. Методы / Под ред. К. Кэтти. // М., Мир. — 1991.

14. Балуда В. П., Деянов И. И., Балуда М. В. и соавт. Профилактика тромбозов. // Издательство Саратовского университета. — 1992. — с.3-5.

Нарушения гемостаза при наследственных коллагенопатиях в рамках синдромов системной мезенхимальной дисплазии

В. Г. Стуров, А. В. Чупрова

Государственная медицинская академия, Новосибирск

Hemostasis Disorders Under Hereditary Collagenopathy As Variant of System Mesenchyme Dysplasia Syndrome

V. G. Sturov, A. V. Chuprova

State Medical Academy, Novosibirsk

В структуре врожденных пороков развития, являющихся одной из ведущих патологий в популяции детей с ограниченными функциональными возможностями — «инвалиды с детства» пороки развития костно-мышечной системы занимают 2-е место, уступая по частоте лишь врожденным порокам сердца [1]. Наиболее распространенными и в определенной степени активно изучаемыми в настоящее время признаются наследственные болезни соединительной ткани, вызванные нарушениями синтеза коллагена, которые обозначаются термином **наследственные коллагенопатии** [НК].

Как известно, коллагены относятся к семействам внеклеточных матриксных белков, играющих важную роль в поддержании целостности органов и тканей, водно-солевого баланса. Они заинтересованы в процессах иммунологической защиты организма, заживлении ран, оссификации костных переломов, агрегации тромбоцитов, стабилизации фибринового сгутка и взаимопревращениях фибриногена, а также в ряде патологических процессах — метастазировании опухолей, фиброзировании и склерозировании тканей [2,4]. Мутации в генах, отвечающих за синтез этих белков, или дефицит активности посттрансляционных ферментов синтеза коллагенов, приводит к возникновению таких наследственных болезней, как несовершенный остеогенез (синдром Вроликa-Лобштейна), некоторые типы синдрома Эллерса-Данлос, синдрома Марфана, синдрома Альпорта, дистрофические формы буллезного эпидермолиза, значительное число хондродисплазий (ахондроплазия, ахондрогенез, гипохондроплазия, спондилоэпифизарная дисплазия, синдром Стиклера, дисплазия Книста и др.). Сходные мутации обнаружены также при остеоартрозе, аневризмах аорты и сосудов головного мозга, остеопетрозе (остеопении), различных вариантах остеопороза и пр. Другой серьезной проблемой практической медицины является синдромы и заболевания, сопровождающиеся избыточным синтезом коллагена,

что приводит к развитию фиброза легких, печени, почек и других фиброзирующих процессов. В основе этих заболеваний лежат генетические дефекты, сопровождающиеся снижением активности ферментов, принимающих участие в катаболизме коллагеновых белков [3].

Для наследственных коллагенопатий характерны относительно частая встречаемость патологии как в педиатрической, так и в терапевтической практике, прогредиентность течения, полиорганность поражения, выраженный клинический полиморфизм, ранняя инвадидизация и даже летальность в молодом возрасте.

Клинический синдромокомплекс наследственных коллагенопатий нередко сопровождается проявлениями геморрагического, либо, более редко встречающегося, но более драматично протекающего тромботического синдрома.

К сожалению, до сих пор, среди практических врачей отсутствует единая методология понимания, разграничения синдромов и грамотного опелирования такими основными понятиями, как системная мезенхимальная дисплазия (СМД), недифференцированный синдром дисплазии соединительной ткани, синдром множественных пороков развития, геморрагическая мезенхимальная дисплазия (ГМД), возникающих в рамках морфаноподобного, эллерсоподобного и/или MASS-фенотипа. Этот далеко не полный список состояний подробно изложен в отечественной и зарубежной литературе, акцентируясь в публикациях на проблему дифференциальной диагностики и подходах к адекватной патогенетической коррекции различных вариантов наследственной мезенхимальной соеденительно-тканной неполноценности.

В основе дисплазий соединительной ткани лежат нарушения в развитии и структуре коллагена и коллагеновых волокон. Они обусловлены мутациями в коллагеновых генах и/или дефиците активности энзимов синтеза структурных белков, которые приводят к аномалиям аминокислотной последовательности в молекулах коллагена, нарушениям ферментного расщепления проколлагена, и превращения его в коллаген, нарушениям структуры прекрестных связей в нем, количественным изменениям содержания коллагена в тех или иных структурах [5].

Молекула коллагена имеет, как известно, относительную молекулярную массу 300 кД, длину около 280 нм с диаметром 14 нм и состоит из трех α-цепей, с характерным чередованием пролина, оксипролина и глицина. В структуру коллагена входит и оксилизин, который обеспечивает образование перекрестных сшивок коллагеновых молекул, придавая им значительную прочность [6].

Доля коллагена в общей массе белков — более трети, причем около 40% его находится в коже, примерно 50% — в тканях скелета, а 10%- в строме внутренних органов [7].

В настоящее время идентифицировано 19 типов коллагеновых белков, включающих более чем 30 видов полипептидных цепей, гены которых представлены в 12 хромосомах [5,8]. Ряд генов коллагена тесно сцеплены друг с другом, поскольку располагаются в одном и том же локусе хромосомы. Так, гены α1- и α2-цепей коллагена IV типа расположены на 13q34 хромосоме, и их разделяют лишь 127 пар нуклеотидных оснований. Тесно сцеплены между собой и гены α1- и α2-цепей коллагена VI — оба картированы на 21q22.3 хромосоме [3], а гены α1-цепи коллагенов IX и XIX локализованны на 6q12-q14 [9].

Среди полиморфных клинических симптомов, свойственных системным нарушениями при наличии НК, нарушения механизмов физиологичнского гемостаза являются одними из наиболее драматичными. Различного рода геморрагические и, тем более. тромботические осложнения, могут быть фатальными для пациентов. Ранее проведенные исследования доказали патогенез развития кровоточивость при отдельных формах мезенхимальных дисплазий. Так описаны геморрагические эпизоды при пролабировании клапанов сердца, при врожденных пороках сердца (синдром Ашарда), синдромах Элерса-Данлос, Марфана и др. Однако, ранее в литературе описывалась кровоточивость лишь при отдельных заболеваниях этой группы, между тем, обследование большого числа больных с кровоточивостью, позволили впервые выделить новую группу геморрагических диатезов, генетически связанных с аномалиями развития соединительной ткани и скелета — геморрагические мезенхимальные дисплазии (ГМД), впервые описанные отечественными гемостазиологами под руководством З. С. Баркагана [10,12]. В дальнейших исследованиях его учеников было показано, что нарушения в разных звеньях системы гемостаза при ГМД часты и закономерны, характеризуются не только сосудистыми и тромбоцитарными, но и глубокими плазменными нарушениями. Так выявилась высокая частота сочетания телеангиэктазий и других ангиопатий с болезнью Виллебранда или с тром-

боцитопатиями, ряда мезенхимальных дисплазий с тромбоцитопатиями и с дефицитом факторов свертывания или дисфибриногенемиями [11,13]. Однако очень важные стороны патогенеза кровоточивости при мезенхимальных дисаплазиях остаются пока недостаточно исследованными, неизвестна частота нарушений сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза при часто всречающихся синдромах СМД (MASS-, элерсо- и марфаноподобном, нидефференцированном варианте СМД). В частности, почти не освещена в литературе закономерность нарушений конечного этапа свертывания крови при ГМД, а в связи с этим не проводится патогенетическая коррекция этих нарушений. В одной из последних научных работ [10], освящающих особенности изменения гемокоагуляционных параметров при синдроме ГМД, приведена нижеследующая классификация этих нарушений.

КЛАССИФИКАЦИЯ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА ПРИ ГМД

(по З. С. Баркагану и Г. А. Сухановой, 2004 г.)

I. Геморрагические телеангиэктазии без других нарушений гемостаза.

II. Нарушения тромбоцитарного гемостаза.

А. Дисфункция тромбоцитов.
1. Дизарегационные тромбоцитопатии, в том числе:
   — с нарушением реакции высвобождения;
   — с нарушением адгезии тромбоцитов;
   — с нарушением ретракции сгустка;
   — с тромбоцитопенией.
2. Изолированное нарушение адгезии тромбоцитов.
3. Изолированное нарушение доступности ПФ-3.
4. Изолированное нарушение ретракции кровяного сгустка.

Б. Тромбоцитопения.

III. Дефицит фактора Виллебранда, в том числе:
— с телеангиэктазией (синдром Квика);
— с нарушением доступности ПФ-3 (синдром Виллебранда–Юргенса);
— с тромбоцитопенией.

IV. Нарушения коагуляционного гемостаза.
1. Дефицит факторов свертывания крови, в том числе:
   — дефицит фактора VII и/или X при ТАР-синдроме.
2. Диспротромбинемии.
3. Дисфибриногенемии, в том числе:
   — с нарушением полимеризации фибин-мономеров

V. Комбинированные нарушения в разных звеньях системы гемостаза.
1. Сочетание тромбоцитопатий с нарушением конечного этапа свертывания крови.
2. Сочетание дефицита фактора Виллебранда с тромбоцитопатиями.
3. Сочетание дефицита фактора Виллебранда с нарушением полимеризации фибрин-мономеров.

Как видно из представленной систематизации нарушений, патология конечного этапа свертывания рассматривается преимущественно в виде дисфибриногенемии с нарушением процессов эффективной полимеризационной активности мономеров фибрина. Тогда как на самом деле изменения финального этапа процесса гемокоагуляции являются более разнообразными и многоликими, что и определило базисную стратегию нашего исследования.

Цель исследования: изучить состояние конечного этапа свертывания крови и функциональную активность тромбоцитов при тяжелых системных коллагенопатиях в рамках синдрома геморрагической гематомезенхимальной дисплазии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего было обследовано 221 пациент, систематизация которых по группам представлена в **табл.1**. Большинство детей в возрасте 5–16 лет (средний возраст 10,5±2,3). Основная группа была сформирована из 13 пациентов (5–13 лет), страдающих тяжелыми наследственными коллагенопатиями. В группу клинического сравнения вошли 76 подростков с недифференцированными вариантами ГМД в основном в виде Эллерсоподобного (*n=24*), Марфаноподобного (*n=45*) и MASS-фенотипов (*n=17*). Группу лабораторного сравнения было включено 52 пациента с тяжелыми формами наследственных тромбоцитопатий и болезнью Виллебранда, не отягощенной мезенхимальной дисплазией. Кроме того, были подвнергнуты комплексному обследованию 47 родственников I и II линии вышеизложенных пациентов. Контрольную группу составили 20 здоровых подростков.

Для исследования системы гемостаза венозную кровь получали из локтевой вены широкой иглой в

Таблица 1.

Распределение обследованных детей по группам

Группы обследованных больных	Абс. кол-во	%
I. Основная группа — больные с наследственными коллагенопатиями (*n=13*):		
- синдром Эллерса-Данлос	3	1,35
- синдром Марфана	3	1,35
- синдром Ашарда	2	0,90
- синдром Вролика-Лобштейна	4	1,81
- Франческетти-Ролланза	1	0,45
II. Группа клинического сравнения (*n=76*) недифференцированный синдром СМД, в том числе		
- Эллерсоподобный фенотип	24	10,86
- Морфаноподобный фенотип	45	20,36
- MASS — фенотип	17	7,69
III. Группа лабораторного сравнения (*n=55*):		
- Наследственные тромбоцитопатии	35	15,8
- болезнь (синдром) Виллебранда	20	9,05
IV. Родственники обследованных пациентов	47	21,27
V. Контрольная группа	20	9,05
ВСЕГО:	221	100,0

пластиковые пробирки в соответствии с рекомендациями руководства З. С. Баркагана и А. П. Момота [12]. Кровь немедленно смешивали с 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 и центрифугировали при 1000 об/мин (140–160g) в течение 7 минут, получая богатую тромбоцитами плазму (PRP), использовавшуюся в дальнейшем для исследования функции кровяных пластинок. Для проведения коагуляционных тестов полученную PRP подвергали центрифугированию при 3000–4000 об/мин (1200–1400 g) в течение 15 мин при комнатной температуре (+18...+25°С). Полученную бедную тромбоцитами плазму (PPP) использовали при проведении исследований в течение первых 2 часов.

Наряду с рутинными коагулологическими пробами, детально изложенными в соотвествующих методических руководствах, в настоящей работе использовались методы исследования тромбоцитарногого гемостаза, а также тесты, оценивающие эффективность конечного этапа свертывания, т. е. каскада процессов от тромбин-опосредованого расщепления фибриногена до образования консолидированного фибринового сгустка путем ряда последовательных биохимических реакций.

Методы исследования тромбоцитарного гемостаза

1. Спонтанная агрегация тромбоцитов в крови по Н. И. Тарасовой (1979).
2. Определение функции тромбоцитов на лазерном анализаторе микрочастиц «ЛАСКА-Био» (НПФ «Люмекс», С.-Петербург) под действием индукторов агрегации — АДФ, (конечная концентрация 1×10^{-5}М), адреналина (конечная концентрация 10 мкг/мл), фибрин-мономеров (в конечной концентрации 2,4 г/л), тромбина — с активностью 1,5 NIH/ml), коллагена (конечная концентрация 20 мг/мл), ристомицина (конечная концентрация — 0,17 мкг/мл).
3. Определение доступности 3 пластиночного фактора по каолин-лебетоксовому тесту — принцип Spaet, Citron (1973), модификация З. С. Баркагана (1975).
4. Определение фактора Виллебранда по Evans, Osten (1977) в модификации О. А. Цигулевой, К. М. Бишевского и А. Г. Архипова (1978).

Методы оценки эфективнсоти конечного этапа свертывания

1. Эхитоксовый тест (с ядом многочешуйчатой эфы Echis multisquamatus) по Л. П. Цывкиной (1977).
2. Тромбиновое время (ТВ) по Biggs, Macfarlane (1962).
3. Анцистродоновый тест (с ядом щитомордника обыкновенного Agristrodon halus halus) по Л. П. Цывкиной (1977).
4. Определение аутополимеризации фибрин-мономеров по А. Ш. Бышевскому и соавт. (1985).
5. Уровень растворимого фибрина в плазме — орто-фенантролиновым тестом (О-ФТ) по В. А. Елыкомову и А. П. Момоту (1987).
6. XIIa — зависимый лизис эуглобулинов по Г. Ф. Еремину и А. Г. Архипову (1982).
7. Концентрация фибриногена в плазме по Clauss (1957).

Таблица 2

Частота различных геморрагических проявлений у больных ГМД

Вид кровоточивости	Больные с ГМД (*n=116*)	
	Количество больных	Процент наблюдений
Носовые кровотечения	94	81,0
Синячковость кожи и слизистых	40	34,4
Меноррагии	24	20,7
Десневые кровотечения	48	41,4
Кровотечения при порезах	72	62,1
После экстракции зубов	19	16,4
После хирургических вмешательств	9	7,8
Желудочно-кишечные кровотечения	7	6,0
Кровохарканье	2	1,7
Гематурия	2	1,7
Гематомы	13	11,2
Гемартрозы	2	1,7
Кровоизлияния в сетчатку глаза	5	4,3
Субарахноидальное кровоизлияние	1	0,8

Статистическая обработка результатов проведена на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 2000 и Statistica 6.0 for Windows XP.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические проявления СМД включали в себя различные признаки соеденительнотканной дисплазии, причем у большинства пациентов было обнаружено сочетание 2-х и более признаков мезенхимальной дисплазии. У подавляющего числа обследованных (68,7%) среди всех групп превалировали признаки дисфункции покровных коллагенов (I и III типов) в виде гиперэластоза кожи, замедления заживления ран, гипермобильность и наличия в анамнезе первичных подвывихов шарнирных суставов среднего колибра, деформации позвоночника в виде кифосколиотичской осанки. У пациентов с синдромом Марфана и «обладателей» одноименного фенотипа преобладали на фоне астенической конституции, костные аномалии в виде долихостеномелии, арахнодактилии, подвивыхи хрусталика, готическое небо. При синлроме Ашарда доминировали диспластические изменения внутрисердечных коммуникаций (пролапсы клапанов, аномалии хордального аппарата, ангиоэктазии). У 1 ребенка с данной патологией имела место гемодинамически значимый порок мирального клапана с преобладанием его недостаточности. При синдроме несовершенного остеогенеза на фоне нарушений пигментного обмена (симптом «голубых склер») превалировали различные диспластические изменения в органах (печень, почки, легкие).

Геморрагические проявления у больных ГМД были разной локализации и степени выраженности. У подавляющего большинства обследованных наблюдалась контактная кровоточивость 1–2 и более локализаций. При этом геморрагический синлром у паицентов с диферренцированными тромбоцитовазопатиями манифестировал в раннем возрасте и носил рецидивирующий характер, связанны с сезонными обострениями и провоцирующийся на фоне медикаментозных воздействий или наличия активиного инфекционно-воспалитеоьного процесса (обострение хронического тонзиллита, глистной инвазии). Представленные в **табл. 2** данные указывают на преимущественно микроциркуляторную и/или смешанную кровоточивость у наших пациентов, что было определено характером нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Из **таблицы 3** видно, что средние показатели индуцированной агрегации на все виды агонистов и степени адгезии тромбоцитов к коллагену были достоверно ниже контрольных параметров. При этом чаще обнаруживалась гипоагрегация на АДФ-, адреналин-, фибриноген и коллаген-агрегации тромбоцитов, значительно реже — тромбин-агрегация тромбоцитов, замедлялась и реакция высвобождения содержимого гранул хранения (в основном АДФ).

У 3 больных с синдромом Марфана наблюдалась субпарциальная дизагрегационная тромбоцитопатия с нарушением мембранной активации тромбоцитов (АДФ, адреналин, коллаген-агрегация). У больных с синдромом Элерса-Данлоса выявлена парциальная дизагрегационная тромбоцитопатия — у одного обусловленная снижением АДФ-, а у другого коллаген-агегации тромбоцитов. У пациентов с синдромо Вролиа-Лобштейна наблюдались нарушения тромбин- и адреналин-агрегации тромбоцитов. Кроме того при синлроме несоврешенного астеогенеза, связанного с аномалиями коллагена Iα и IV типов сущетсвенно нарушалась адгезивная активнрсоть тромбоцитов к коллагену и стекловолокну. В ряде случаев (25,6%

Таблица 3

Средние показатели и частота нарушений тромбоцитарного гемостаза у больных СМД с тромбоцитарными дисфункциями

Исследуемые показатели	Больные с ГМД (n=171)	Контроль	РК
	X±m		
Агрегация тромбоцитов на: АДФ,%	**45,3±3,1**	67,4±1,6	<0,001
Адреналин, %	**37,5±3,8**	71,0±3,7	<0,001
Коллаген, %	**35,4±3,2**	66,5±1,7	<0,001
Фибриноген, %	**21,8±1,9**	72,5±2,8	<0,001
Тромбин, %	**84,2±3,5**	97,2±2,4	<0,05
Адгезия к коллагену, %	**14,6±1,1**	25,1±1,5	<0,001
Фактор Виллебранда, %	**54,3±2,1**	98,2+1,9	<0,001
Реакция высвобождения, %	86,6±3,5	94,5±2,3	>0,1
Количество тромбоцитов $\times 10^9$/л	208,7±12,5	232,1±13,7	>0,5

наблюдений) было отмечено снижение активнсоти у данной категории пациентов активнсоти плазменого фактора Виллебранда, что и объясняло характер дизадгезивных нарушений.

Особый интерес представляют особеннсоти нарущений конечного этапа у пациентов с коллагенопатиями в условиях СМД. У пациентов основной группы в подавляющем большинстве наблюдений (80%) регистрировались сочетанные дефекты гемостаза, заключающиеся в пролонгации скорости Ауто- и Гето-ПФМ (*p<0,01*), отчетливые нарушения в ядовых тестах (*p<0,05*), определяющие дефект процесса самосборки мономеров фибрина на уровне стадии тромбин-индуцированного отщепления от α-цепей фибриногена фибринопептидов А, выявляемого в анцистродоновом тесте. Стоит отметить, что базисные коагуляционные пробы (АПТВ, ПТВ, концентрация фибриногена) у этих больных зачастую оставались интактными, в связи с чем, выявленные изменения у этих больных трактовались как фоновая (скрытая) дисфибриногенемия (ДФГ). Выявлялась достоверная (*p<0,001*) гипоагрегация тромбоцитов на контактные индукторы (фибриноген, коллаген и тромбин) при сохраненной мембранной активации, что свидетельствовало о дефекте агонистов в α и β-гранул.

Очевидно, что у пациентов основной группы были достоверно удлиннены показатели тромбинового времени, анцистродонового теста и скорости аутополимеризации ФМ при интактности показателей «базисных» коагуляционных проб (АПТВ, ПТВ, концентрации фибриногена). Выявленные изменения указывают на преимущетсвенный характер нарушений конечного этапа свертывания у пациентов с НК в виде структурных аномалий фибриногена — дисфибриногенемий. Аномальные фибриногены были не способны посльноцеено образовывать коснсолидированный фибюриновый сгусток, кроме того, нередко имела место фоновая недостаточнсоть фактора XIIIa, что еще более дестабилизирвоало процесс фибрино- / фибриногеногенеза.

У больных с синдромом Морфана и Эллерса-Данло выявлялась депрессия межтромбоцитарного взаимодействия за счет качественной аномалии эндогенного коллагена, сглаженность II волны и, как следствие, наступление ранней дезагрегации, свидетельствовавшей об отсутствии эффективной внутритромбоцитарной генерации эндогенных проагергантов, в частности, TR-A2. При синдроме Франческетти и несовершенного остеогенеза (Вролика-Лобштейна) наряду с множественными фенотипическими аномалиями развития лица, туловища и стромальных элементов, обнаруживалась клинически выраженная гемостазиопатия в виде тромбоцитарной дисфункции и синдрома Виллебранда. Активность последнего снижалась не более чем на 40% от нормы. Клинически у этих больных преобладала микроциркуляторная кровоточивость и геморрагии появлялись после травм или микроинвазивных операциях (экстракции зубов, аденотомии и пр.). Таким образом, в основной группе выявленные клинико-лабораторные нарушения системы гемостаза укладывались в рамки синдромокомплекса наследственной СМД. Стурктуризация выявленных нарушений свертывания указывала на преобладание различных вариантов тромбоцитопатий (72,7%). Дизагрегационные феномены зачастую сочетались с нарушениями эффективности конечного этапа в виде аномалии сшивок фибрин-мономеров, нарушения активации фактора XIII и его фибриноконсолидирующего действия, а также повышенной фибринолитической аткивности плаз-

Таблица 4

Средние показатели коагуляционного гемостаза у больных основной группы (n=13)

Тесты	Показатели коагуляционного гемостаза				РК
	Частота нарушений		Больные X±m	Контроль X±m	
	n	%			
АПТВ, с	4	30,8	41,4±2,7	38,7±0,4	>0,5
ПТВ, с	3	23,1	15,9±1,02	14,8±0,7	>0,1
Тромбиновое время, с	5	45,5	**19,4±1,3**	15,0±0,1	<0,01
Концентрация фибриногена, г/л	2	15,4	2,42±0,13	3,4±0,4	>0,5
Эхитоксовое время, с	3	23,1	35,2±2,0	30,4±1,1	>0,05
Анцистродоновое время, с	8	61,5	**38,4±2,3**	29,5±1,1	<0,01
Аутополимеризация ФМ, с	9	69,2	**29,4±1,9**	16,1±0,1	<0,001
Гетерополимеризация ФМ, с	3	23,1	16,5±1,1	15,3±0,1	>0,5
Актьивность фактора XIIIa, %	4	36,4	**64,3±2,12**	84,3±2,05	<0,001
РФМК в плазме, мкг/мл	2	18,2	45,0±1,03	36,0±1,2	>0,01

мы в результате усиленния тропности аномального фибриногена к компонентам Хагеман-зависимого фибринолиза (плазмину и t-PA), что выявлялось по ускорению эуглобулинового лизиса. Выявленные изменения на уровне конечсного этапа гемокоагуляционного каскада ассоциировлаись с качественными аномлаиями фибриногена — геморрагичскими дисфибриногенемиями, которые, по-видимому, наследовалсись содружественно с аномалиями коллагенов. У одного ребенка (9,1%) патологии свертывания в объеме исследуемых параметров не обнаруживалось.

У 19 (24,4%) больных наследственными коллагенопатиями в услолвиях дифференцированных и недеддифференцированных вариантов СМД наряду с дисфункцией тромбоцитов были выявлены нарушения конечного этапа свертывания крови. Выявление подобных комлексных видов патологии гемостаза имеет важное клиническое значение, поскольку подобного рода коагулологических нарушений зачастую пропускаются, либо игнорируются врачами на этапе первичной диагностики, оставляя нераскрытыми важные звенья патологического процесса, в силу чего не проводятся необходимые лечебные мероприятия.

В группе клинического сравления при всех видах диспластических синдромов обнаруживались однотипные нарушения функции тромбоцитов, однако нарушения АДФ- и фибриноген-агрегации тромбоцитов встречается чаще при марфаноподобном и MASS-подобном синдроме, тогда как адреналин, коллаген и гемолизат-агрегация чаще угнеталась при эллерсоподобном фенотипе, что согласуется с данными других авторов [10,14].

Сопоставление выявленных в основной и сравнительной группах патогенетичексих вариантов нарушений конченого этапа свертывания, проявляющегося пролонгированием скорости самосборки мономеров фибрина было выделено 3 группы нарушений:

1) Торможение аутополимеризации, при нормальной гетерополимеризации фибрин-мономеров, удлинение анцистродонового и тромбинового времени свертывания свидетельствует о нарушениях, не связанных с наличием ингибиторов полимеризации, а обусловленых аномалиями фибриногена, связанным с нарушением отщепления от последнего фибринопептидов А.
2) Торможение ауто- и гетерополимеризации фибрин-мономеров. В этих случаях можно думать о наличии ингибиторов процессов самосборки мономеров фибрина. Известно, что ингибитором полимеризации может быть и собственный аномальный фибриноген [13].
3) Сочетанное удлинение эхитоксового и анцистродонового времени, позволяющее выделить дисфибриногенемию с нарушением отщепления обоих фибринопептидов (А и В).

В данной работе не рассматриваются тромботические проявления при мезенхимальных дисплазиях, являющихся наиболее драматичными и прогностическинеблагоприятными последнчмями мезенхиамльной неполноценности, что требует обязательного проведения прогрмаммы антитромботической превенции у данной категории пациентов.

В заключении стоит отметить, что терапевтическая коррекция при НК в силу сложности направленного воздействия на генетически неполноценный коалленовый матрикс должна складываться из комбинации гемостатических препаратов, подобранных исходя из конкретного

характера коагулологических нарушений с обязательным включением в терапевтический курс корректоров метаболизма соеденительно-тканных производных. В группе последних целесообразно применение модуляторов синтеза гликозаминогликанов (структурм, румалон), стимуляторов коллагенообразования (хондроитинсульфат, ДОНА) и биоэнергокорректоров (витаминно-микроэлесентные комплексы, аминокислотные коктели, БАДы, обогащенные микронутрицевтиками). Становится реальным также и применение рекомбинантных препаратов человеческого фибриногена (FibroRAAS) (фирма RAAS, China), направленно компенсируя нарушения в структуре функциональных сайтов аномлаьной молекцлы фибриногена. В случаях выбора хирургической тактики, при ортопедо-реконструктивных вмешательствах проведение пред-/интрооперационной гемостатической, антитромботической и метаболической терапии сущетсвенно невилирует риск развития послеоперационных осложнений, что также подтверждается ранее проведенными исследованиями [10,14].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кадурина Т. И. Наследственные коагулопатии./ С-Петербург-2000. — 270 с.*
2. *Fleishmajer R., Olsen B., Kuha K. Eds. Structure, molecular biology, and pathology of collagen.// Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2000. — V.580. — №1. — P. 592.*
3. *Vuorio E. Connective tissue disease: mutations of collagenen genes.// Ann. Clin. Res. — 1986. — V.18. — P.234-241.*
4. *Mc Kusick V. A. Heritable disorders of connective tissue. // St. Lonis. — 1972. — 215 p.*
5. *Kivirikko K. Collagens and thei Abnormalities in Wide Spectrum of Diseases.// Ann. of Med. — 2003. — V.25. — P.113-126.*
6. *Лазюк Г. И., Лурье И. В., Черствой Е. Д. Наследственные синдромы множественных врожденных пороков развития. — М.: Медицина. — 1993. — 208 с.*
7. *Mayne R., Burgeson R. E., eds Structure and function of collagen types.// Orlando. — Academic Press. — 1987.*
8. *Prockop D. J. Mutation that alter the primary structure of type I collagen. The perils of a systems for generating larde structures by the principle of nucleated growth. // J. Biol. Chem. — 1990. — V. 265. — P. 15349-15352.*
9. *Yoshioko H., Zhang H., Ramires F. Et al. Synteny between the loci for novel FACIT like collagen locus (D6S 22BE) and 21(IX) collagen (COL9 21) on 6q12q.14 humans// Genomics. — 1992. — V.13. — P.884-886.*
10. *Суханова Г. А. Клиника, диагностика и коррекция геморрагических и тромботических синдромов при мезенхимальных дисплазиях: Автореф. дисс... докт. мед. наук. — Барнаул, 2004. — 248 с.*
11. *Баркаган З. С., Суханова Г. А., Буевич Е. И. и др. Геморрагические мезенхимальные дисплазии: основные нарушения в системе гемостаза и принципы их коррекции // Консилиум. — 2000. — №6(16). — С.6-9.*
12. *Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001. — 285 с.*
13. *Батрак Т. А. Участие нарушений полимеризации мономеров фибрина в генезе различных видов кровоточивости. Автореф. дисс.... канд. мед. наук, Барнаул. — 1999.*
14. *Anstey A., Mayne K., Winter M. et al. Platelet and coagulation studies in Ehlers-Danlos syndrome.// Br. J. Dermatol.. — 1991. — Aug. — V.125. — №2. — P.155-163.*

Влияние фраксипарина на реологические свойства крови и состояние микроциркуляции у больных с острым коронарным синдромом

Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева, Л. А. Иванова, Т. Н. Толстая, Е. В. Миронова

Лаборатория клинической патофизиологии кровообращения Республиканского научно-практического центра «Кардиология» МЗ РБ

Fraxiparin Influence On Blood Rheological Properties And Microcirculation In Patients With Acute Coronary Syndrome

E. E. Konstantinova, N. L. Tsapaeva, L. A. Ivanova, T. N. Tolstaya, E. V. Mironova

Laboratory of Clinical Blood Circulation Pathophysiology Of Republic Scientifical-And-Practic Centre «Cardiology», Minsk, Belarus

The aim of the study was to investigate the fraxiparin effect on rheological properties of blood and microcirculation state in acute coronary syndrome (ACS).

Rigidity index was used to estimate the red blood cells (RBC) deformability. RBC aggregation was assessed by measurement of erythrocyte sedimentation rate. Blood and plasma viscosity was determined by rotary viscosimetry at shear rates 20, 100 and 200 s^{-1}. To observe microcirculation directly on the bulbar conjunctiva we have used an intra-vital video-microscopic system.

We have examined 16 patients with unstable angina (UA) and 15 patients with nonQ-wave myocardial infarction (MI) treated by fraxiparin for 7 days. 11 patients with UA and 14 patients with nonQ-wave MI treated by unfractionated heparin were included in control groups.

Treatment of patients with ACS using fraxiparin leads to red blood cells aggregation decrease and significant improvement of microcirculation, especially in patients with UA.

Ключевые слова: *нестабильная стенокардия — острый инфаркт миокарда — низкомолекулярные гепарины — деформируемость эритроцитов — вязкость крови — агрегация эритроцитов — микроциркуляция*

ВВЕДЕНИЕ

Антикоагулятная терапия (АКТ) в настоящее время является обязательной составляющей комплексного лечения больных с острыми формами ишемической болезни сердца (ИБС). Первым и наиболее изученным препаратом, который на протяжении многих лет с успехом применяется с этой целью, является ингибитор тромбина — нефракционированный гепарин (НФГ). Однако в связи с рядом недостатков АКТ с использованием НФГ (короткая продолжительность действия, необходимость тщательного лабораторного контроля эффективности лечения, риск развития гепарин-индуцированной тромбоцитопении) возникла необходимость поиска и разработки более эффективных и безопасных способов АКТ. Выделение низкомолекулярных фракций НФГ и получение более 20-ти лет назад низкомолекулярных гепаринов (НМГ) открыло новые перспективы АКТ. Преимущества НМГ (ингибирование коагуляционного каскада на уровне Ха фактора, более высокая биодоступность, большая продолжительность действия, меньшая иммуногенность) позволяют значительно повысить эффективность АКТ, свести к минимуму риск ее осложнений [6]. Накопленный за последние десять лет опыт применения НМГ в лечении нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда [3, 7] показал высокую эффективность этих препаратов при остром коронарном синдроме (ОКС). В настоящее время получены многочисленные данные о снижении прокоагулянтного потенциала и активации фибринолитической системы крови на фоне АКТ с использованием НМГ, а также о способности препаратов данной группы уменьшать функциональную активность тромбоцитов [4, 8]. Однако в литературе практически отсутствуют результаты исследований влияния НМГ на состояние микроциркуляции и реологические свойства крови. В то же время, как известно, развитие нестабильной стенокардии (НС) и острого инфаркта миокарда (ИМ) происходит на фоне патологически измененной микроциркуляции. Периферическая вазоконстрикция, шунтирование кровотока, стазы, агрегация эритроцитов, внутрисосудистое свертывание крови, возрастание сосудистой проницаемости, патология гемореологии — основные нарушения микроциркуляции при обострении ИБС [2, 5]. В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось изучение влияния одного из наиболее широко используемых представителей группы НМГ — фраксипарина — на реологические свойства крови и состояние микроциркуляции у больных с ОКС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 27 больных НС (средний возраст 52,1±4,9 года) и 29 больных nonQ ИМ (средний возраст 53,4±5,1 года). У всех пациентов последний ангинозный приступ имел место не ранее 24 часов до поступления в клинику. Исследование МВ-КФК, МГ и ТІ проводилось в исходном состоянии и, при необходимости, через 6–12 часов от момента поступления в клинику. Повышение ТІ выше 0,04 нг/мл у 2 больных с НС при повторном исследовании явилось основанием выставить диагноз мелкоочагового ИМ, подтвержденного данными ЭКГ и/или ЭХО-КГ.

Деформируемость эритроцитов определяли путем измерения начальной скорости протекания суспензии клеток через ядерные мембранные фильтры с диаметром пор 3 мкм под действием силы тяжести на приборе ИДА-1 (Россия) и расчета индекса ригидности эритроцитов (ИРЭ). Степень агрегации красных клеток оценивали по скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в стеклянных капиллярах высотой 200 мм и диаметром 3 мм. Вязкость цельной крови ($\eta_{кр.}$) и плазмы ($\eta_{пл.}$) определяли на анализаторе вязкости крови АВК-01 (Россия) при скоростях сдвига 20; 100; 200 $с^{-1}$ и 100 $с^{-1}$, соответственно.

Исследование микроциркуляции проводили методом биомикроскопии сосудистого русла

Таблица 1.

Изменения показателей гемореологии у больных нестабильной стенокардией в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина (группа 1) и НФГ (группа 1к) X + Sx

Сроки наблюдения / Показатель	Группа 1			Группа 1к		
	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки
ИРЭ, отн. ед.	24,7±2,9	23,0±3,1	22,8±2,7	22,9±2,4	24,1±2,7	24,3±2,8
$СОЭ_2$, мм/2ч	41,7±4,6	44,1±4,9	27,2±3,4*	39,1±4,3	43,5±5,1	38,4±3,8
$\eta_{кр.}^{20}$, мПа·с	5,9±0,3	5,59±0,2	5,61±0,24	5,92±0,3	5,97±0,3	6,03±0,34
$\eta_{кр.}^{100}$, мПа·с	3,92±0,1	3,73±0,1	3,76±0,11	4,0±0,13	4,03±0,2	4,01±0,14
$\eta_{кр.}^{200}$, мПа·с	3,4±0,11	3,3±0,12	3,29±0,1	3,49±0,1	3,5±0,11	3,27±0,13
$\eta_{пл.}$, мПа·с	1,7±0,08	1,7±0,07	1,71±0,06	1,7±0,07	1,72±0,07	1,74±0,08

*Примечание: — различия достоверны по отношению к исходным значениям при уровне значимости * — p < 0,05.*

Таблица 2.

Изменения показателей микроциркуляции у больных нестабильной стенокардией в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина (группа 1) и НФГ (группа 1к) X + Sx

Сроки наблюдения / Показатель	Группа 1			Группа 1к		
	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки
ПКСИ, баллы	8,37±0,9	8,23±0,9	8,15±0,84	8,45±0,9	8,52±0,9	8,51±0,92
Sl, баллы	2,33±0,24	1,6±0,2**	1,4±0,2***	2,36±0,2	2,3±0,24	1,83±0,16*
Mtr, баллы	1,65±0,18	1,4±0,16	1,15±0,16*	1,7±0,2	1,68±0,2	1,34±0,15
ПКВСИ, баллы	3,92±0,4	2,87±0,3*	2,53±0,28**	4,0±0,41	3,96±0,4	3,12±0,34*

*Примечание: — различия достоверны по отношению к исходным значениям при уровне значимости * — p < 0,05; ** — p < 0,01; *** — p < 0,001.*

бульбарной конъюнктивы с использованием щелевой лампы ЩЛ-2БП и разработанного нами совместно с ГП «ЛЭМТ» устройства визуализации УВ-SL-85. Признаки нарушения микроциркуляторного кровотока группировались по двум направлениям с учетом сосудистых и внутрисосудистых изменений.

Количественную оценку конъюнктивальной микроциркуляции проводили по шкале баллов, соответствующей каждому параметру, в основу которой положена система критериев *Л. Т. Малой и соавт.* [1]. Суммы баллов представляли парциальные и общий конъюнктивальные индексы.

16 больных НС (группа 1) и 15 пациентов с nonQ ИМ (группа 2) получали фраксипарин по 0,3 мл подкожно каждые 12 часов в течение первых 7-ми суток от момента поступления в клинику. 11 пациентов с НС (группа 1к) и 14 больных с nonQ ИМ (группа 2к) получали НФГ по стандартной схеме, начиная с 10 тыс. ед. 4 раза в сутки с последующим уменьшением дозы в 2 раза через каждые 7 дней. Сопутствующая медикаментозная терапия пациентов всех групп включала нитраты, бета-блокаторы, при необходимости, ингибиторы АПФ.

Исследования проводили исходно, после окончания АКТ и на 21–25 сутки госпитализации. Полученные данные обработаны статистически с вычислением среднего значения и его ошибки с использованием приложения к «Ecxel-7». Достоверность различий определялась по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования реологических свойств крови у больных НС в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина представлены в **таблице 1**. Изменений деформируемости эритроцитов, по данным оценки ИРЭ, на фоне проводимой терапии, как в основной, так и в контрольной, группах не установлено. Не установлено также изменений степени агрегации красных клеток пос-

Таблица 3.

Изменения показателей гемореологии у больных мелкоочаговым ИМ в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина (группа 2) и НФГ (группа 2к) X+Sx

Сроки наблюдения / Показатель	Группа 2			Группа 2к		
	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки
ИРЭ, отн. ед.	26,0±2,8	27,2±3,1	25,7±2,7	25,5±2,4	26,9±3,2	24,2±2,6
$СОЭ_2$, мм/2ч	62,1±5,8	44,3±4,5**	36,9±3,9***	59,7±6,2	54,8±5,7	42,1±4,8*
$\eta_{кр.}^{20}$, мПа·с	6,83±0,4	6,78±0,34	6,72±0,32	6,59±0,32	6,52±0,3	6,48±0,3
$\eta_{кр.}^{100}$, мПа·с	4,54±0,2	4,32±0,16	4,01±0,15*	4,03±0,14	3,99±0,2	3,97±0,14
$\eta_{кр.}^{200}$, мПа·с	3,82±0,1	3,78±0,12	3,62±0,11	3,67±0,13	3,6±0,13	3,58±0,12
$\eta_{пл.}$, мПа·с	1,75±0,07	1,69±0,08	1,61±0,06*	1,74±0,08	1,7±0,07	1,73±0,08

*Примечание: — различия достоверны по отношению к исходным значениям при уровне значимости * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.*

Таблица 4.

Изменения показателей микроциркуляции у больных мелкоочаговым ИМ в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина (группа 2) и НФГ (группа 2к) X+Sx

Сроки наблюдения / Показатель	Группа 2			Группа 2к		
	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки	исходно	после АКТ	на 21–25 сутки
ПКСИ, баллы	8,71±0,9	8,7±0,91	8,69±0,89	8,81±0,9	8,9±0,91	8,93±0,94
Sl, баллы	2,67±0,3	2,48±0,2	1,87±0,2*	2,6±0,21	2,64±0,2	2,59±0,18
Mtr, баллы	1,84±0,21	1,83±0,2	1,43±0,14	1,71±0,2	1,74±0,2	1,35±0,14
ПКВСИ, баллы	4,5±0,47	4,3±0,48	3,3±0,35*	4,3±0,46	4,4±0,45	3,93±0,41

*Примечание: — различия достоверны по отношению к исходным значениям при уровне значимости * — $p < 0,05$.*

ле окончания АКТ. При этом в группе пациентов с НС, получавших фраксипарин, на 21–25 сутки лечения этот показатель достоверно снижается по отношению к исходным значениям. Выраженных изменений вязкости крови и плазмы в данных группах также не установлено.

Оценка состояния микроциркуляции у больных НС на фоне проводимой терапии (**таблица 2**) показала, что у пациентов, получавших фраксипарин, к моменту окончания АКТ, достоверно снижается парциальный конъюнктивальный внутрисосудистый индекс (ПКВСИ), что обусловлено, как видно из представленной таблицы, значительным уменьшением степени выраженности сладж-феномена (Sl), в первую очередь, в капиллярах. На 21–25 сутки лечения у этих пациентов имеет место более значимое снижение ПКВСИ, что является результатом уменьшения степени выраженности не только сладж-феномена, но и микротромбоза (Mtr) в венулах и капиллярах. У пациентов с НС, получавших НФГ, положительные сдвиги в состоянии внутрисосудистого компонента микроциркуляции имеют место только на 21–25 сутки от момента госпитализации, и выраженность этих изменений значительно меньше, чем в основной группе.

Оценка клинического статуса пациентов показала, что в основной группе стабилизация состояния имела место на 5–7 сутки лечения, в контрольной — на 9–12 сутки терапии.

Таким образом, проведение АКТ с использованием фраксипарина у больных НС сопровождается выраженным уменьшением степени агрегации эритроцитов, а также значительным улучшением структуры микроциркуляторного кровотока, что является одним из факторов повышения эффективности терапии этих пациентов.

В **таблице 3** представлены результаты оценки реологических свойств крови у больных мелкоочаговым ИМ в процессе проведения АКТ с использованием фраксипарина и НФГ. Деформируемость эритроцитов у пациентов основной и контрольной

групп не изменяется. Степень агрегации красных клеток на фоне применения фраксипарина достоверно уменьшается к моменту окончания АКТ, и на 21–25 сутки наблюдения отмечается ее дальнейшее снижение. В контрольной группе данный показатель достоверно снижается на 21–25 сутки наблюдения. Как видно из **таблицы 3**, у больных мелкоочаговым ИМ, получавших фраксипарин, на 21–25 сутки наблюдения достоверно снижается вязкость цельной крови, измеренная при скорости сдвига 100 $с^{-1}$, а также имеет место достоверное уменьшение вязкости плазмы.

Как показывают результаты оценки состояния микроциркуляции (**таблица 4**), после проведения АКТ с использованием фраксипарина у больных мелкоочаговым ИМ на 21–25 сутки наблюдения имеет место достоверное снижение ПКВСИ, обусловленное уменьшением степени выраженности сладж-феномена в венулах и капиллярах.

Таким образом, применение представителя НМГ фраксипарина в комплексной терапии больных с ОКС способствует, в отличие от НФГ, снижению степени агрегации эритроцитов и улучшению состояния внутрисосудистого компонента системы микроциркуляции, особенно у пациентов с НС. Различие эффектов обусловлено, по-видимому, более глубокими нарушениями в состоянии данного звена системы кровообращения у больных мелкоочаговым ИМ, что необходимо учитывать при выборе схем применения фраксипарина у пациентов с НС и мелкоочаговым ИМ.

ВЫВОДЫ

1. У больных ОКС проведение АКТ с применением фраксипарина сопровождается, в отличие от НФГ, достоверным снижением степени агрегации эритроцитов и улучшением структуры микроциркуляторного кровотока. У больных НС эти эффекты более выражены, чем у пациентов с мелкоочаговым ИМ.
2. Полученные данные указывают на то, что для повышения эффективности комплексной терапии ОКС необходим дифференцированный подход к назначению фраксипарина у больных НС и мелкоочаговым ИМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Малая Л. Т., Микляев И. Ю., Кравчук П. Г. Микроциркуляция в кардиологии. — Харьков, 1977. — 231 с.*
2. *Состояние системы микроциркуляции и показатели гемореологии при острых и хронических формах ИБС/ Константинова Е. Э., Цапаев В. Г., Цапаева Н. Л., Милютин А. А. // Акт. вопросы кардиол. Сб. научн. трудов. Вып.1. — Минск, 1997. — С.127-130.*
3. *Anthman E. M., McCabe C. H., Gurfinkel E. P., Turpie A. G. G., Bernink P. J., Salein D., Bayes de Luna A., Fox K., Lablanche J. — M., Radley D., Premmereur J., Braunwald E. for the TIMI 11B Investigators. Enoxaparin prevents death and cardiac ischemic events in unstable angina/nonQ-wave myocardial infarction: Results of the Thombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 11B Trial. Circulation.1999. V100. P.1593-1601.*
4. *Bounameaux H., Lijnen H. R., Hellemans H., Vertraete M. Effects of standard and low molecular weight heparin fractions on fibrinolysis and platelets aggregation in patients undergoing hysterectomy. Thromb. Haemost.1986. V.55. N.2. P.298.*
5. *Chien S. What is clinical haemorheology? / / Royal Society of Medicine Services Limited. International Congress and Symposium Series. — 1986. — №00: Clinical haemorheology: A new approach to Cerebrovascular disease. — P.3-9.*
6. *Davis R, Faulds D. Nadroparin calcium. A review of its pharmacology and clinical use in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. Drugs and Aging., 1997. V.20. P.299-322.*
7. *Eikelboom J. W., Anand S. S., Malmberg K., Weitz J. I., Ginsberg J. S., Yusuf S. Unfractionated heparin and low-molecular-weight-heparin in acute coronary syndrome without ST elevation: a meta-analysis. Lancet.2000. V.355. P.1936-1942.*
8. *Vairel E. G., Brouty-Boye H., Toulemonde F., Doutremepuich C., Marsh N. A., Gaffney P. J. Heparin and a low molecular weight heparin enhance thrombolysis and by this pathway exercise a protective effect against thrombosis. Throm. Res.1983. V.30. P.219-224.*

Нарушения сосудодвигательной и гемостазиологической функции эндотелия у больных ишемической болезнью сердца и их фармакологическая коррекция

А. А. Свистунов, А. П. Василенко
Саратовский государственный медицинский университет

Vasomotions And Hemostatic Endothelial Disorders In Patients With IHD And Pharmacological Approaches

A. A. Svistounov, A. P. Vasilenko
Saratov State Medical University

Нарушение физиологических механизмов регуляции клеточных процессов и эндотелия сосудов, эндотелиальная дисфункция, играет важную роль в возникновении и развитии ишемической болезни сердца (ИБС), являющейся наиболее распространенным заболеванием среди лиц трудоспособного возраста. В настоящее время под дисфункцией эндотелия понимают дисбаланс между факторами, регулирующими местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку, и продуцированием эндотелинов, выявляемых при изучении сосудодвигательной и гемостазиологической функций эндотелия. Эндотелин-1 — мощный модулятор тонуса сосудов, реакций тромбоцитов и моноцитов, клеточного роста и пролиферации, обеспечивает взаимодействие клеток друг с другом, с компонентами соединительнотканного эндотелиального матрикса и плазмы крови [1].

Целью настоящего исследования явилось изучение сосудодвигательной и гемостазиологической функций эндотелия у больных стабильной стенокардией для оценки эффективности коррекции функций эндотелия при использовании изосорбид-5-мононитрата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 139 больных ИБС: 65 больных со стенокардией II и 74 пациента со стенокардией III функционального класса, а так же 20 клинически здоровых лиц. Критериями включения больных в группу наблюдения были: типичные жалобы больных на загрудинные боли, характер клинического течения болезни, а также результаты велоэргометрической пробы с дозированной физической нагрузкой.

Сосудодвигательную функцию эндотелия определяли путем сравнения реакции плечевой артерии на нитроглицерин с реакцией на усиление кровотока (реактивную гиперемию) [2]; гемостазиологическую функцию эндотелия оценивали по степени изменения уровня фактора Виллебранда и протеина С при венозной окклюзии. Уровень эндотелина-1 определяли при помощи ИФА-анализатора «Stat Fax». При обработке полученных данных использовался пакет прикладных программ «Statgraphics 5.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание эндотелина-1 у больных ИБС II и III функциональных классов было достоверно выше, чем у здоровых лиц (**табл. 1**).

Таблица 1

Содержание эндотелина-1 у обследуемых пациентов (M±m)

Группа исследования	Содержание ЭТ-1, пкколь/л
Контрольная группа (*n=20*)	4,35±0,52
Больные стенокардией II ф. к. (*n=65*)	7,22±0,63*
Больные стенокардией III ф. к. (*n=74*)	10,14±0,87*

*Примечание: * — различия показателей по сравнению с группой контроля достоверны при p<0,05.*

Уровень эндотелина-1 у больных стенокардией III функционального класса возрастал практически в 1,5 раза по сравнению с больными II функционального класса. Отсюда следует, что нарушение функции эндотелия сосудов у больных ИБС усугубляется при прогрессировании заболевания.

При изучении показателей сосудодвигательной и гемостазиологической функции эндотелия у больных ИБС, для которых уже было констатировано наличие эндотелиальной дисфункции (**табл. 2**).

Таблица 2

Сосудодвигательная и гемостазиологическая функции эндотелия у больных ИБС в зависимости от показателя дисфункции эндотелия (M+m), (n=139)

Показатель	Медиана по всей группе	Больные с низким «показателем дисфункции эндотелия» (*n=56*)	Больные с высоким «показателем дисфункции эндотелия» (*n=83*)
Исходный диаметр плечевой артерии, мм	34,5±0,65	34,7±2,3	35,7±1,0*
Показатель дисфункции эндотелия, мм	3,5±0,8	4,2±0,3*	2,0±0,3*
Толщина комплекса интима медиа, мм	5,6±0,3	5,8±0,4	6,2±0,3
Протеин С, %	120,50±3,45	139,0±4,15*	129,0±3,5
Фактор Виллебранда, %	125,70±4,55	126,40±3,35	145,90±4,25*

*Примечание: * — p<0,05 в сравнении с медианным значением показателя.*

Одним из современных способов выявления дисфункции эндотелия является сравнение реакции на нитроглицерин с реакцией на усиление кровотока (реактивную гиперемию).

В наших исследованиях у больных стенокардией мы руководствовались общепризнанными критериями оценки дисфункции эндотелия и считали отсутствие достоверных отличий между реакцией плечевой артерии на нитроглицерин и реакцией на реактивную гиперемию, как сохраненную функцию эндотелия.

Так, исходный диаметр плечевой артерии составил в среднем 34,5±0,65 мм. После ишемии он увеличился на 2,5±0,47 мм, а в ответ на нитроглицерин — несколько больше — на 3,5±0,8 мм. Всего у 19 из 139 больных диаметр во время реактивной гиперемии увеличился менее, чем на 10%, то есть у большинства больных (120 человек) была выявлена сосудодвигательная дисфункция. При этом определялась группа больных с минимальными показателями дисфункции эндотелия и с более выраженными показателями эндотелиальной дисфункции с отрицательной корреляцией относительно функциональных классов стенокардии.

Вычисленная разница между реакцией на нитроглицерин и на реактивную гиперемию использовалась нами в качестве «показателя дисфункции эндотелия». Для изучения взаимосвязи сосудодвигательной и гемостазиологической функций эндотелия больные были разделены нами на две подгруппы. Пограничным значением для такого разделения была принята медиана «показателя дисфункции эндотелия».

При разделении всех обследованных больных на подгруппы с более или менее выраженным изменением диаметра в ответ на реактивную гиперемию было установлено, что в этих группах достоверно различалась степень изменения содержания протеина С при венозной окклюзии (**табл. 3**).

В обследованных подгруппах у больных с высоким показателем дисфункции уровень общего холестерина был достоверно выше, а уровень протеина С — ниже, чем во второй подгруппе.

Толщина комплекса «интима-медиа» у обследованных больных ИБС составила 56,0±0,3 мм. При разделении больных в зависимости от толщины комплекса интима-медиа по медиане было выявлено, что динамика уровня протеина С и фактора Виллебранда при проведении венооклюзионного теста в этих группах достоверно различалась.

Задачей следующего этапа исследований являлось определение влияния изосорбида-5-мононитрата — моночинкве, в дозе 40 мг 2 раза в день в течение двух недель, на сосудодвигательную функцию эндотелия больных стабильной стенокардией (**табл. 4**).

В покое средний диаметр плечевой артерии у больных стенокардией с высоким «показателем дисфункции эндотелия» до лечения моночинкве составлял 34,7±0,67 мм; через 2 недели лечения — 38,9±0,54 мм (*p<0,05*). В фазу реактивной гиперемии (60–90 с после декомпрессии) отмечалось увеличение диаметра плечевой артерии до 39,0 и 41,0 см до лечения и через две недели лечения моночинкве, соответственно.

До лечения моночинкве у больных отмечалась нормальная сосудорасширяющая функция на нитроглицерин 17,3±3,3%, что делает маловероятной возможность участия в дисфункции эндотелия нарушенного ответа гладкомышечных клеток сосудов на NO. Через две недели лечения моночинкве наблюдалась тенденция к снижению эндотелий-

Таблица 3

Сосудодвигательная и гемостазиологическай функции эндотелия у больных ИБС в зависимости от реакции на реактивную гиперемию (M±m), n=139

Показатель	Больные с меньшей реакцией на РГ	Больные с большей реакцией на РГ
Исходный диаметр плечевой артерии, мм	34,7±1,2	35,7±1,0
Показатель дисфункции эндотелия, мм	2,2±0,5*	-1,7±0,2*
Реакция на нитроглицерин, мм	3,0±0,6	4,2±0,32*
Толщина комплекса интима-медиа, мм	06,5±0,32	5,7±0,31
Протеин С, %	119,50±7,23	123,40±5,42
Фактор Виллебранда, %	132,56±9,79	120,31±8,75*

*Примечание: * — p<0,05 в сравнении с медианным значением показателя.*

Таблица 4

Влияние изосорбида-5-мононитрата — моночинкве на сосудодвигательную функцию эндотелия больных стабильной стенокардией

Показатель	До лечения (*n=83*)	Через 14 дней лечения (*n=83*)
Исходный диаметр плечевой артерии, мм	34,70±0,67	38,90±0,54
Диаметр плечевой артерии в фазу РГ, мм	38,70±0,35	41,0±0,32*
Диаметр плечевой артерии в фазу РГ, %	9,3±1,1	12,1±1,3*
Диаметр плечевой артерии после приема нитроглицерина, мм	41,0±0,41	39,70±0,24
Прирост диаметра плечевой артерии после приема нитроглицерина, %	18,2±1,3	17,1±0,7

*Примечание: достоверность различий * — p<0,05*

зависимой вазодилатации под влиянием нитроглицерина до 10,9±1,7%, что с учетом длительного непрерывного применения нитрата, возможно, отражает наличие порога вазорегуляции, который ограничивает резервные возможности сосуда увеличивать диаметр под влиянием эндотелийнезависимых вазодилататоров, что согласуется с экспериментальными данными [2].

В норме вазодилатация, вызванная нитроглицерином, составляет 15–17%. Показатели дилатации плечевых артерий людей без факторов риска атеросклероза и без клинических признаков ИБС в ответ на увеличение кровотока остаются относительно стабильными.

Анализ динамики клинических проявлений ИБС у больных на фоне лечения показал, что к 14 дню терапии моночинкве снижались частота приступов стенокардии и потребность в приеме нитроглицерина. Пациенты отмечали повышение переносимости повседневных физических нагрузок, работоспособности. Антиангинальный эффект моночинкве был отмечен у 96% больных. Число приступов в неделю уменьшилось на 61%, потребность в приеме нитроглицерина снизилась до 2-3 таблеток в неделю. Результаты велоэргометрической пробы, проведенной через 2 недели лечения моночинкве, подтвердили субъективные данные о повышении переносимости физических нагрузок. Общий объем выполненной работы увеличился с 50 до 75 Вт. До лечения моночинкве во время проведения ВЭМ-пробы у 18% больных возникали наджелудочковые экстрасистолы с частотой 5-9 в минуту. Через 2 недели лечения они появлялись во время ВЭМ только у 2 больных. Это подтверждает тот факт, что нитропрепараты уменьшают различия в продолжительности эффективного рефрактерного периода нормально кровоснабжаемых и ишемизированных отделов миокарда.

Под влиянием непрерывной двухнедельной терапии моночинкве отмечено также улучшение сократительной функции миокарда с повышением фракции выброса с 46,1±2,7% до 52,3±3,5% и увеличением ударного объема с 73,2±9,3 мл до 76,5±8,1 мл. Конечный систолический объем левого желудочка уменьшился на 8,2%, при этом конечный диастолический объем левого желудочка достоверно не изменился.

Переносимость двухнедельной терапии моночинкве у большинства больных была хорошей. Побочные эффекты, характерные для нитратов, наблюдались у 3 больных в виде головной боли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных стабильной стенокардией уровень эндотелина-1 характеризуется достоверным увеличением в зависимости от функционального класса заболевания. Эндотелинопосредованные изменения определяют степень нарушений сосудодвигательной и гемостазиологической функции эндотелия. У больных отмечается нарушение эндотелинзависимой сосудодвигательной функции в виде снижения реакции эндотелия во время пробы с реактивной гиперемией. Выявлена взаимосвязь показателей сосудодвигательной и гемостазиологической дисфункции эндотелия у больных стенокардией напряжения II и III функциональных классов. Констатирована связь реакции на усиление кровотока с динамикой уровня протеина С. Значительно выраженной является зависимость изучаемых факторов системы гемостаза от толщины сосудистой стенки: чем больше толщина сосудистой стенки, тем более выражена реакция факторов системы гемостаза на венозную окклюзию.

Эндотелинзависимая вазодилатация плечевой артерии под влиянием двухнедельной терапии моночинкве нормализуется, что выражается в увеличении вазодилатирующей реакции на стимуляцию повышенным кровотоком после кратковременной окклюзии. Моночинкве обладает антиангинальной активностью, снижает частоту приступов стенокардии, улучшает морфофункциональные показатели сердечной деятельности с повышением фракции выброса и толерантности к физической нагрузке.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гомазков О. А. Эндотелин в кардиологии. Молекулярные, физиологические и патологические аспекты. // Кардиология. — 2001. — № 2. — с. 50-58.*
2. *Затейщиков Д. А., Минушкина Л. О., Кудряшова О. Ю. и др. Функциональное состояние эндотелия у больных артериальной гипертонией и ИБС. // Кардиология. — 2000. — № 6. — с. 14-17.*

Состояние системы гемостаза и анемия у больных множественной миеломой и хроническим миелолейкозом

Н. О. Сараева [1], Е. О. Андреева [2]

[1] Иркутский государственный медицинский университет, [2] Областная клиническая больница, Иркутск

Hemostasis And Anemia In Patients With Multiple Myeloma And Chronic Myeloid Leukemia

N. O. Saraeva [1], E. O. Andreeva [2]

[1] Irkutsk State Medical University, [2] Irkutsk State Regional Clinical Hospital, Irkutsk

The aim of the work was to study meaning of infringements of hemostasis in development of anemia in patients with multiple myeloma and chronic myeloid leukemia. 156 patients were examined: 91 patients with multiple myeloma (MM), and 65 patients with chronic myeloid leukemia (CML). Platelet part of hemostasis was estimated with the help of studying of platelet aggregation, determination of blood grume retraction. Coagulation hemostasis was estimated with the help of prothrombin index (PTI), activated partial thromboplastin time (APTT), recalcification activated time test (RAT), thrombin time (TT). Activity of fibrinolytic systems was estimated by the fibrin grume natural lysis, plasminogen. Besides soluble antithrombin-III activity (AT-III), fibrinogen, fibrin-monomeric complexes in plasma (SFMC). Establish, what patients with MM and CML with infringements in three links of hemostasis had decreased hemoglobin level than patients with infringements in one and two links of hemostasis. Consequently, infringements in everybody links of hemostasis result in heavy anemia in patients with MM and CML.

Key words: *hemostasis — anemia — multiple myeloma — chronic myeloid leukemia.*

Анемия является довольно частым симптомом при гемобластозах и встречается в 60—80% случаев [1, 2, 3]. Наличие анемии приводит к снижению качества жизни, к ухудшению результатов химио- и лучевой терапии, к снижению продолжительности жизни больных [4, 5, 6]. Анемия при гемобластозах относится к группе анемий хронических заболеваний (АХЗ), один из механизмов развития которой является уменьшение периода жизни эритроцитов [7]. У пациентов с АХЗ период жизни эритроци-

тов обычно колеблется от 60 до 90 суток по сравнению со 120 сутками у здоровых лиц. Одной из причин гемолиза эритроцитов может быть разрушение их в микротромбах вследствие ДВС-синдрома, который обнаруживается при гемобластозах [8, 9, 10]. Целью работы явилось изучение состояния системы гемостаза и влияния выявленных изменений на развитие анемии у больных множественной миеломой (ММ) и хроническим миелолейкозом (ХМЛ).

Материалы и методы. Обследовано 156 человек, из них 91 больной ММ (43 мужчины и 48 женщин) и 65 больных ХМЛ (26 мужчин и 39 женщин). Медиана по возрасту у больных ММ составила 61 год (24–78 лет), у больных ХМЛ — 51 год (18–78 лет). Тромбоцитарное звено оценивалось с помощью изучения агрегации тромбоцитов экспресс-методом визуальной оценки по *А. С. Шитиковой* (1984) [11]; ретракции кровяного сгустка по *З. С. Баркагану и А. П. Момоту* (1999) [11]. Коагуляционный гемостаз оценивался с помощью определения активности факторов протромбинового комплекса по *A. J. Quick* (1957) (ПТИ) [12]; активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) по *З. С. Баркагану, А. П. Момоту* (1999) [11]; каолинового времени свертывания по *З. С. Баркагану, А. П. Момоту* (1999) [11]; тромбинового времени (ТВ) по *З. С. Баркагану, А. П. Момоту* (1999) [11]. Активность фибринолитической системы оценивалась по определению естественного лизиса фибринового сгустка по *М. А. Котовщиковой и Б. И. Кузнику* (1962) [12]; уровню плазминогена с применением хромогенного субстрата по *З. С. Баркагану, А. П. Момоту* [11]. Активность первичного физиологического антикоагулянта — антитромбина–III (АТ-III) определяли по *З. С. Баркагану, А. П. Момоту* (1999) [11]. Проводили определение концентрации фибриногена, основанное на преципитационном методе [13] и растворимых фибринмономерных комплексов (РФМК) — маркеров внутрисосудистой активации системы гемостаза по методу *А. П. Момота, В. А. Елыкомова, З. С. Баркагана* (1999) [11]. В зависимости от нарушений в системе гемостаза больные были разделены на три группы. В первую группу вошли больные с нарушением в одном звене системы гемостаза, во вторую — с нарушениями в двух звеньях системы гемостаза и в третью — с нарушениями во всех трех звеньях системы гемостаза. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц сопоставимых по полу и возрасту. Статистическая обработка материала проводилась с помощью ППП Statistica 6. Использовались непараметрические методы с расчетом медианы, верхнего и нижнего квартили. При сравнении групп использовался метод Краскела-Уоллиса, а также тест Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони при оценке значения p, корреляционный анализ проведен по методу Спирмена.

Результаты и обсуждение. Все больные ММ имели нарушения в том или ином звене системы гемостаза. Как видно из **таблиц 1**, **2**, **3** у больных ММ преобладали нарушения со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Они выражались в снижении агрегации тромбоцитов у 89 чел. (97,8%) и ретракции кровяного сгустка — у 58 чел. (63,7%).

У больных ХМЛ преобладали нарушения со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и фибринолитической системы (**табл. 4**, **5**, **6**). Они выражались в снижении агрегации тромбоцитов у 26 чел. (40%) и повышении её — у 17 чел. (26,2%); снижении ретракции кровяного сгустка у 37 чел. (56,9%) и повышении её — у 18 чел. (27,7%). Нарушения в системе фибринолиза выражались в повышении активности фибринолитической системы у 31 чел. (50,8%) и в её снижении — у 7 чел. (10,7%). Обращает на себя внимание, повышенное содержание РФМК у 44 чел. (67,7%). У двух больных ХМЛ нарушений в системе гемостаза не выявлено.

Первую группу составили 21 больной ММ и 16 больных ХМЛ, вторую — 41 больной ММ и 25 больных ХМЛ и третью — 29 больных ММ и 22 больных ХМЛ.

При определении уровня гемоглобина в зависимости от нарушений в системе гемостаза установлено. В первой группе больных ММ содержание гемоглобина было 117 г/л (98–139 г/л), во второй — 102 г/л (88–118 г/л), в третьей — 72 г/л (63–108 г/л), в контрольной группе — 134 г/л (123–152 г/л).

У больных ХМЛ в первой группе уровень гемоглобина был 113 г/л (99–128,5 г/л), во второй — 105 г/л (93–118 г/л), в третьей — 92 г/л (71–105 г/л).

Как видно на **рис. 1** и **2** у больных ММ и ХМЛ третьей группы выявлено достоверное снижение гемоглобина по сравнению с первой ($p<0,001$ и $p<0,01$ соответственно), второй ($p<0,004$ и $p<0,04$ соответственно) и контрольными группами ($p<0,001$).

Таблица 1

Показатели гемостаза у больных множественной миеломой (n=91)

Показатели	Контроль (*n=65*)	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
N агрегация тромбоцитов (сек.)	15,0 (14,0–15,0)	15,0 (15,0–16,0)	2	2,2	нет
⇩ агрегации тромбоцитов (сек.)		34,0 (23,0–54,0)	89	97,8	p<0,001
N ретракция (%)	38,0 (37,0–39,0)	38,0 (38,0–39,0)	3	3,3	нет
⇧ ретракция (%)		49,5 (45,0–57,0)	30	33	p<0,001
⇩ ретракция (%)		28,0 (22,0–32,0)	58	63,7	p<0,001
N АПТВ (сек.)	31,0 (28,0–35,0)	30,0 (28,0–34,0)	66	72,5	нет
Удлинено АПТВ (сек.)		48,0 (47,0–49,0)	2	2,2	нет
Укорочено АПТВ (сек.)		24,0 (22,0–26,0)	23	25,3	p<0,001
N ПТИ (%)	88,0 (85,0–93,0)	90,5 (85,0–96,0)	74	81,3	нет
⇩ ПТИ (%)		75,0 (71,0–78,0)	17	18,7	p<0,001

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

Таблица 2

Показатели гемостаза у больных множественной миеломой (n=91) (продолжение)

Показатели	Контроль (*n=65*)	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
N АВР (сек.)	51,0 (45,0–60,0)	50,0 (48,0–56,0)	79	86,8	нет
Удлинено АВР (сек.)		74,0 (72,0–80,0)	11	12,1	p<0,001
Укорочено АВР (сек.)		34	1	1,1	нет
N ТВ (сек.)	15,0 (12,0–15,0)	15,0 (13,0–15,0)	61	67	нет
Удлинено ТВ (сек.)		19,0 (18,0–20,0)	28	30,8	p<0,001
Укорочено ТВ (сек.)		10,0	2	2,2	нет
N РФМК (г/л×10^{-2})	1,6 (0–2,5)	1,6 (0–2,2)	68	74,7	нет
⇧ РФМК(г/л×10^{-2})		6,0 (4,5–7,5)	23	25,3	p<0,001
N АТ-III (%)	99,0 (89,0–112,0)	101,0 (95,0–115,0)	65	71,4	нет
⇧ АТ-III (%)		128,0 (126,0–132,0)	23	25,3	p<0,001

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

Таблица 3

Показатели гемостаза у больных множественной миеломой (n=91) (продолжение)

Показатели	Контроль (*n=65*)	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
⇩ АТ-III (%)	99,0 (89,0–112,0)	65,0 (56,0–77,0)	3	3,3	p<0,003
N плазминоген (%)	99,0 (89,0–109,0)	98,0 (85,0–111,0)	74	81,3	нет
⇧ плазминоген (%)		156,0 (151,0–166,0)	9	9,9	p<0,001
⇩ плазминоген (%)		68,5 (65,5–72,0)	8	8,8	p<0,001
N фибринолиз (%)	15,0 (12,0–17,0)	14,0 (12,0–17,0)	75	82,4	нет
⇧ фибринолиз (%)		22,5 (22,0–28,0)	14	15,4	p<0,001
⇩ фибринолиз (%)		7,0 (5,0–9,0)	2	2,2	нет
N фибриноген (г/л)	3,6 (3,1–4,0)	3,3 (2,8–3,7)	49	53,8	нет
⇧ фибриноген (г/л)		4,8 (4,5–5,6)	34	37,4	p<0,001
⇩ фибриноген (г/л)		1,7 (1,6–1,8)	8	8,8	p<0,001

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

У больных с ММ при проведении корреляционного анализа установлена средняя обратная корреляционная связь между уровнем гемоглобина и агрегацией тромбоцитов (*r=–0,4; p<0,001*), гемоглобина и содержанием РФМК (*r=–0,51; p<0,001*), гемоглобина и уровнем АТ-III (*r=–0,46; p<0,001*) и

Таблица 4

Показатели гемостаза у больных ХМЛ (n=65)

Показатели	Контроль (*n=65*)	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
N агрегация тромбоцитов (сек.)	15,0 (14,0–15,0)	14,0 (13,0–15,0)	22	33,8	нет
⇧ агрегации тромбоцитов (сек.)		10,0 (10,0–11,0)	17	26,2	p<0,001
⇩ агрегации тромбоцитов (сек.)		49,0 (22,0–85,0)	26	40	p<0,001
N ретракция (%)	38,0 (37,0–39,0)	38,0 (38,0–39,0)	10	15,4	нет
⇧ ретракция (%)		45,0 (41,0–50,0)	18	27,7	p<0,001
⇩ ретракции (%)		27,0 (15,0–31,0)	37	56,9	p<0,001
N АПТВ (сек.)	31,0 (28,0–35,0)	33,0 (30,0–36,0)	58	89,2	нет
Удлинено АПТВ (сек.)		47,0 (46,0–55,0)	5	7,7	p<0,001
Укорочено АПТВ (сек.)		20,0 (19,0–21,0)	2	3,1	нет

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

Таблица 5

Показатели гемостаза у больных ХМЛ (n=65) (продолжение)

Показатели	Контроль (*n=65*)	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
N АВР (сек.)	51,0 (45,0–60,0)	55,0 (48,0–63,0)	54	83,1	нет
Удлинено АВР (сек.)		87,0 (80,0–92,0)	11	16,9	p<0,001
N ТВ (сек.)	15,0 (12,0–15,0)	15,0 (13,0–16,0)	55	84,6	нет
Удлинено ТВ (сек.)		19,0 (18,0–21,0)	10	15,4	p<0,001
N ПТИ (%)	88,0 (85,0–93,0)	86,0 (82,0–91,0)	47	72,3	нет
⇩ ПТИ (%)		76,0 (74,0–78,0)	18	27,7	p<0,001
N плазминоген (%)	99,0 (89,0–109,0)	100,0 (92,0–120,0)	54	83,1	нет
⇧ плазминоген (%)		156,0 (145,0–165,0)	5	7,7	p<0,001
⇩ плазминоген (%)		71,0 (68,0–73,0)	6	9,2	p<0,001

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

Таблица 6

Показатели гемостаза у больных ХМЛ (n=65) (продолжение)

Показатели	Контроль n=65	Медиана значений в группе больных	Число больных	%	P
N АТ-III (%)	99,0 (89,0–112,0)	107,5 (98,0–112,5)	52	80	нет
⇧ АТ-III (%)		134,0 (130,0–145,0)	13	20	p<0,001
N фибринолиз (%)	15,0 (12,0–17,00)	15,0 (12,0–16,0)	25	38,5	нет
⇧ фибринолиз (%)		31,0 (23,0–35,0)	33	50,8	p<0,001
⇩ фибринолиз (%)		2,0 (1,0–6,0)	7	10,7	p<0,001
N фибриноген (г/л)	3,6 (3,1–4,0)	3,4 (2,7–3,7)	36	55,4	нет
⇧ фибриноген (г/л)		4,7 (4,3–6,8)	26	40	p<0,001
⇩ фибриноген (г/л)		1,7 (1,5–1,8)	3	4,6	нет
N РФМК (г/л×10^{-2})	1,6 (0–2,5)	2,0 (0–3,0)	21	32,3	нет
⇧ РФМК(г/л×10^{-2})		5,9 (5,0–12,5)	44	67,7	p<0,001

Примечание: В таблице приведены медиана (Me), верхний и нижний квартили
⇧ — повышенный уровень; ⇩ — пониженный уровень; N — в пределах контрольных значений.

средняя прямая корреляционная связь между показателями гемоглобина и АПТВ (*r=0,32; p<0,002*).

У больных ХМЛ при проведении корреляционного анализа установлена средняя обратная корреляционная связь между уровнем гемоглобина и АВР (*r=–0,39; p<0,001*), гемоглобина и ТВ (*r=–0,37; p<0,002*), гемоглобина и уровнем РФМК (*r=–0,55; p<0,001*) и средняя прямая корреляционная связь между показателями гемоглобина и ПТИ (*r=0,43; p<0,001*).

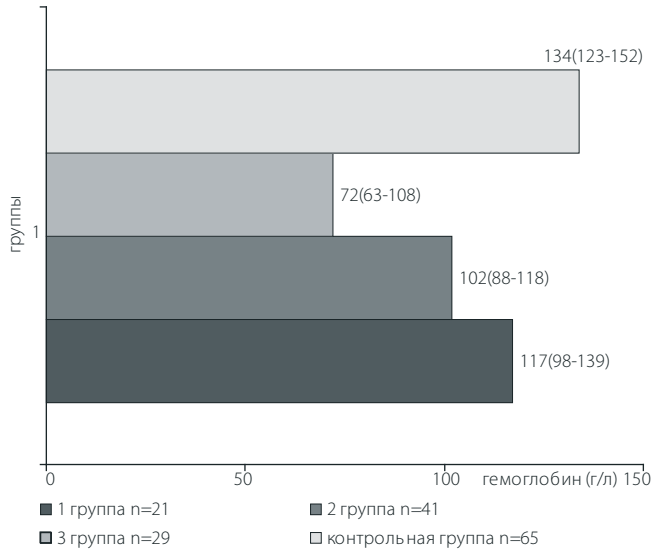


Рис. 1. Уровень гемоглобина у больных множественной миеломой в зависимости от нарушений в системе гемостаза

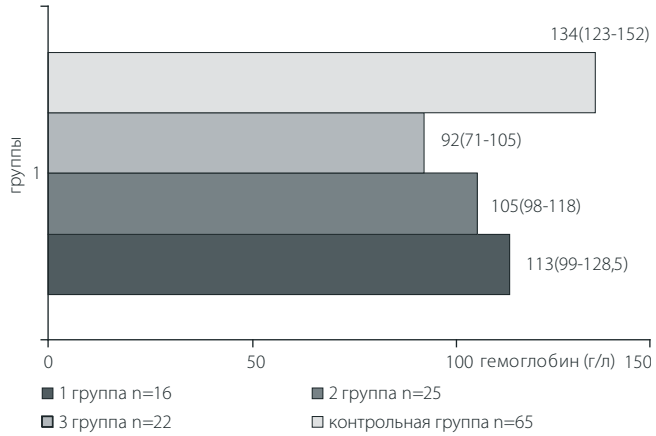


Рис. 2. Уровень гемоглобина у больных хроническим миелолейкозом в зависимости от нарушений в системе гемостаза

Проведенные исследования показали, что все больные ММ и 63 больных ХМЛ (96,9%) имели нарушения в том или ином звене системы гемостаза. У большинства больных ММ преобладали нарушения со стороны сосудисто-тромбоцтарного гемостаза, которые выражались в снижении агрегации тромбоцитов и ретракции кровяного сгустка, что согласуется с данными других исследователей [14]. Эти изменения связывают с повышенным содержанием общего белка крови за счет патологических парапротеинов, которые как «муфта» окутывают тромбоциты и нарушают их основные функции адгезию и агрегацию [15]. Кроме того у четверти больных ММ имелось повышение РФМК и уровня АТ-III, укорочение АПТВ, что свидетельствует о внутрисосудистой активации системы гемостаза у этих больных [16].

У больных ХМЛ преобладали нарушения со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и фибринолитической системы. У 40% имелось снижение агрегации тромбоцитов, более чем у половины больных — снижение ретракции кровяного сгустка. При исследовании коагуляционного гемостаза выявлено снижение ПТИ у 27,7%, удлинение АВР — у 16,9%. Нарушения в системе фибринолиза выражались в повышении активности фибринолитической системы у половины больных ХМЛ. Обращает на себя внимание, повышенное содержание РФМК у большинства больных ХМЛ — 67,7%. Нарушения со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных ХМЛ обусловлены, вероятно, принадлежностью тромбоцитов к «лейкозному клону». Повышение уровня РФМК свидетельствует о повышенном тромбинообразовании, в ответ на которое происходит активация фибринолитической системы [16].

Разнонаправленные сдвиги в коагулограмме наличие гипо-, гиперкоагуляции, повышенный уровень РФМК, активация противосвертывающих механизмов свидетельствуют о течении хронического ДВС-синдрома [17, 18]. ДВС-синдром может приводить к повышенному разрушению эритроцитов в микротромбах [9]. Описано снижение деформируемости эритроцитов у больных ММ [20]. Кроме того, наличие способности эритроцитов к агрегации [21, 22], приводит к нарушению процессов транскапилярного обмена, в результате чего возникает так называемая анемия повреждения. В связи с этим при развитии ДВС-синдрома у больных ММ и ХМЛ может иметь место, повреждение эритроцитов в сосудистом русле, что приводит к развитию анемии [19]. Проанализировав уровень гемоглобина у больных ММ и ХМЛ в зависимости от степени нарушения в системе гемостаза, установлено, что у больных с нарушениями во всех трех звеньях системы гемостаза (сосудисто-тромбоцитарном, коагуляционном и противосвертывающем звене) уровень гемоглобина достоверно ниже, чем у больных, имеющих нарушения в каком-либо одном звене ($p<0,001$ и $p<0,01$ соответственно), или двух звеньях ($p<0,004$ и $p<0,04$ соответственно) и контрольной группе ($p<0,001$). Таким образом, нарушения в системе гемостаза, затрагивающие все его звенья, приводят к развитию хронического ДВС-синдрома, и способствуют более тяжёлому течению анемии у больных ММ и ХМЛ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. *Straus D. J. Epoetin alfa therapy for patients with hematologic malignancies and mild anemia. — Clin.*

Lymphoma. — 2003;4(1):13-17.

2. *Ludwig H. Anemia of hematologic malignancies: what are the treatment options? — Semin. Oncol. — 2002;29(8):45-54.*
3. *Borbenyi Z. Etiology and treatment of malignancy-associated anaemia. — Magy Onkol. — 2001;45(5):437-441.*
4. *Волкова М. А., Ширин А. Д. Эритропоэтин в лечении анемии при онкологических заболеваниях. — Гематол. и трансфузиол. — 1997;6:33-36.*
5. *Wasi S. Treating chemotherapy-induced anemia. — 38th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. — 2002, May 18-21; Orlando, Florida.*
6. *Кацциола М. Патофизиология и лечение анемии у онкологических больных. — Анемия у онкологических больных. — 2002;1(1):11-13.*
7. *Белошевский В. А., Минаков Э. В. Анемия при хронических заболеваниях. Из-во Воронежского университета, 1995. — 94с.*
8. *Белошевский В. А. Некоторые проблемы патогенеза анемий при гемобластозах // Кибернетика и химия в кардиологии. Воронеж, 1991. — с.89-92.*
9. *Бессмельцев С. С., Федорова З. Д., Абдулкадыров К. М. Исследование реологических свойств эритроцитов и системы гемостаза у больных острым лимфобластным лейкозом. — Гемат. и трансфузиол. — 1991;11: с.3-6.*
10. *Scharf R. E., Schneider W. Relationship of thrombin generation to peripheral blast cell count in patients with acute myeloblastic leukemia. — Europ. J. Haematol. — 1990;44(5):273-276.*
11. *Баркаган З. С., Момот А. П. Основы диагностики нарушений гемостаза. — М. — 1999. — 217 с.*
12. *Балуда В. П., Баркаган З. С., Гольдберг Е. Д. и соавт. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. — Томск. — 1980. — 313 с.*
13. *Бояджиян Х., Бакалова Р. Микрометод количественного определения фибриногена. — Лабор. дело. — 1982;5:192.*
14. *Ксензова Т. И., Андреева Н. Е., Жердева П. В. Некоторые нарушения гемостаза у больных парапротеинемическими гемобластозами. — Гематол. и трансфузиол. — 1997;4:22-26.*
15. *Андреева Н. Е., Балакирева Т. В. Парапротеинемические гемобластозы: Множественная миелома, Макроглобулинемия Вальденстрема, болезни тяжелых цепей. Глава из Руководства по гематологии / Под ред. А. И. Воробьева. — Тверь. — 2003. — 88с.*
16. *Лычев В. Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. М., 1993. — 159 с.*
17. *Баркаган З. С. Геморрагические заболевания и синдромы. М., 1988. 526с.*
18. *Клиническая онкогематология / под ред. М. А. Волковой. М. — 2001. — 572 с.*
19. *Баркаган З. С. Патология гемостаза//Рук-во по гематологии/ Под ред. акад. А. И. Воробьева. М., 1985. — т.2. — с.160-311.*
20. *Кацадзе Ю. Л., Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Влияние различных программ цитостатической терапии на гемокоагуляционные и реологические свойства крови у больных множественной миеломой. — Тер. арх., 1991;7:61-64.*
21. *Гущин А. Г., Шабалин В. А., Виноградов И. Е. и соавт. Гемореологические изменения при регионарной гипоксии нижних конечностей и ее коррекции. — Тромбоз, гемостаз и реология. — 2003;3(15):72-74.*
22. *Ройтман Е. В., Морозов Ю. А., Исаева А. М. и соавт. Феномен адренергической агрегации эритроцитов в эксперименте и в клинике. — Тромбоз, гемостаз и реология. — 2004;3(19):69-73.*

Нарушения системы гемостаза в острый период ожоговой болезни

М. В. Преснякова, А. Н. Сидоркина, В. Г. Сидоркин

Федеральное государственное учреждение
«Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Hemostatic Disorders During Acute Period After Burn

M. V. Presnyakova, A. N. Sidorkina, V. G. Sidorkin

Nizhniy Novgorod Institute Of Traumatology And Orthopedy

Key words: *burns — hemostatic system — disseminated intervascular coagulation*

Анализ научной литературы и результаты наших исследований свидетельствуют о чрезвычайной актуальности и необходимости изучения синдрома ДВС у больных с тяжелыми ожогами как с точки зрения формирования более глубоких представлений о патогенезе ожоговой болезни, так и совер-

шенствования лечебных мероприятий у пострадавших от тяжелой термической травмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состояние системы гемостаза изучено у 186 пациентов, получивших термическую травму на площади более 20% поверхности тела (индекс тяжести поражения — более 30 ед.) и находившихся на лечении в клинике Российского ожогового центра на базе Нижегородского НИИ травматологии и ортопедии. Группу выживших больных составили 100, группу умерших — 86 пациентов. Исследования проводили в остром периоде ожоговой болезни — в течение 12 суток после травмы. У всех пациентов термическая травма сопровождалась развитием тяжелого и крайне тяжелого ожогового шока. Контрольную группу составили практически здоровые люди — 100 человек.

Исследования состояния систем гемокоагуляции, эндогенных антикоагулянтов и фибринолиза осуществляли с помощью следующих методик: определения тромбинового, протромбинового, активированного частичного тромбопластинового времени, концентрации фибриногена, плазминогена, растворимых фибрин-мономерных комплексов (орто-фенантролиновый и этаноловый тесты, а также тест «склеивания» стафилококков), активности антитромбина III, системы протеинов С и S, XIIa-зависимого фибринолиза (наборы реагентов фирмы «*Технология-Стандарт*», г. Барнаул). Выявление легкой фракции эритроцитов (тест на поврежденные эритроциты) осуществляли в гематокритном капилляре по разработанной нами оригинальной методике [1, 2]. Оценку содержания в крови Д-димеров осуществляли полуколичественным методом с использованием набора реагентов «Fibrinosticon» (фирма «*Organon Teknika B. V.*», Голландия). Подсчет количества тромбоцитов проводили с помощью гематологического анализатора «Cell-Dyn 610» (фирма «*Abbott Diagnostics*», США). На основании результатов исследования различных звеньев системы гемостаза рассчитывали предложенные нами интегральные показатели — антикоагулянтно-фибринолитического потенциала (ИПАФП) [3], почечно-печеночной недостаточности (ИППН) [4], диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ИПДВС) [5].

Для оценки состояния гепаторенальной недостаточности с помощью биохимического автоанализатора «Express Plus» (фирма «*Ciba-Corning*», Англия) в сыворотке крови пострадавших исследовали в динамике содержание некоторых метаболитов (альбуминов, мочевины, креатинина, холестерола) и активность фермента аспартатаминотрансферазы. Электролиты сыворотки крови определяли на анализаторе ионов «М 614» (фирма «*Ciba-Corning*», Англия).

Статистический анализ результатов исследований выполнен с использованием персонального компьютера и программы Stadia 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования хронометрических тестов – протромбинового времени, тромбинового времени и АЧТВ — показал их недостаточную информативность для диагностики ДВС-синдрома. Доля значений частоты встречаемости показателей, находящихся в пределах нормы, для всех хронометрических тестов превышала 50%. На невысокую диагностическую ценность этих методов при ДВС-синдроме указывают и другие исследователи [6–9]. Коэффициенты корреляции результатов хронометрических тестов и интегрального показателя, характеризующего тяжесть гемостазиологических расстройств (ДВС-синдрома) — ИПДВС, оказались минимальными. Основная особенность данных хронометрических тестов при термической травме – отчетливо выраженная разнонаправленность показателей в динамике ожоговой болезни. Наиболее часто этот признак наблюдается в переходную фазу ДВС-синдрома (между гипер- и гипокоагуляцией).

Изучение содержания фибриногена в остром периоде ожоговой болезни показало, что у обожженных, независимо от исхода патологического процесса (пациенты выжили или умерли), во все сроки наблюдения, за исключением первых суток, концентрация изучаемого белка достоверно превышала его значения в контрольной группе ($p<0,05$). При этом содержание фибриногена в группе умерших больных было выше, чем в группе выживших ($p<0,05$). Гипофибриногенемия не обнаружена ни у одного больного. Очевидно, это связано с тем, что фибриноген относится к белкам острой фазы воспаления, и его изначально повышенный уровень предопределяется основным заболеванием воспалительной природы (ожоговой болезнью). В процессе развития ДВС-синдрома потребление фибриногена при формировании микротромбов компенсируется усилением биосинтеза этого белка под действием продуктов

его распада, а с другой стороны – нарушением его деградации в легких в условиях ожоговой болезни [10–12]. Гиперфибриногенемия в сочетании с тромбинемией и торможением XIIa-зависимого фибринолиза может быть одной из причин прогрессирования микротромбообразования [13, 14]. Как показали результаты корреляционного анализа, в острый период ожоговой болезни концентрация фибриногена статистически значимо находится в прямой зависимости от тяжести ДВС-синдрома: более тяжелая форма ДВС-синдрома сопровождается увеличением в крови содержания фибриногена.

Для диагностики ДВС-синдрома является важным выявление маркеров внутрисосудистого свертывания крови — РФМК (растворимых фибрин-мономерных комплексов), а также ПДФ (продуктов деградации фибрина и фибриногена) и D-димеров. Многие авторы считают повышение в крови содержания РФМК и ПДФ типичным лабораторным признаком ДВС-синдрома [15–17]. Эти соединения обнаруживаются с помощью так называемых паракоагуляционных тестов (ортофенантролинового, этанолового), а также теста «склеивания» стафилококков, наиболее информативным из которых, как показали наши исследования у больных с термической травмой, является ортофенантролиновый тест [18].

У всех пострадавших от термической травмы, т. е. выживших и умерших, через сутки после ожога концентрация РФМК возрастала в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало о высоком уровне тромбинемии. По истечении двух суток с момента ожога содержание РФМК в крови пациентов продолжало увеличиваться. Максимальные значения изучаемого показателя зафиксированы на 3–4-е (181,3±6,60 мг/л) и 5–6-е сутки (180,8±7,15 мг/л) ожоговой болезни. Содержание РФМК в этот период превышало контрольную величину показателя в 6 раз. В период с 7-х по 12-е сутки концентрация РФМК снижалась до уровня 142,0±6,56 мг/л. Концентрация РФМК в крови пострадавших положительно коррелировала с тяжестью ДВС-синдрома ($r=+0,532$, $p<0,001$): по данным интегрального показателя ДВС-синдрома (ИПДВС) возрастание содержания РФМК было сопряжено с утяжелением синдрома ДВС Этот факт указывает на высокие диагностические возможности теста определения в крови обожженных концентрации РФМК с целью выявления ДВС-синдрома и оценки его тяжести.

Маркером тромбообразования и сопутствующего ему процесса локального фибринолиза, протекающего непосредственно в тромбе, является повышенное содержание в крови D-димеров [19-22]. Анализ динамики частоты выявления положительных значений теста на D-димеры показал возрастание этого параметра, начиная с первых суток от момента термической травмы и до конца наблюдения (12 суток после ожога), — с 58,8% до 93,3% случаев соответственно.

Повышенная концентрация ПДФ у обожженных была выявлена с помощью этанолового теста и теста «склеивания» стафилококков, которые также показали активацию процесса внутрисосудистого свертывания крови в раннем периоде ожоговой болезни.

Продукты деградации фибрина и фибриногена оказывают многогранное негативное действие на все звенья гемостаза – коагуляционное, тромбоцитарное и сосудистое. В частности, согласно данным *R. L. Bick et al.* [23], ПДФ и D-димеры стимулируют синтез и высвобождение из моноцитов (макрофагов) интерлейкинов, вызывающих дисфункцию эндотелия, а также ПАИ-1 (ингибитор активатора плазминогена), подавляющего XIIa-зависимый фибринолиз, что в целом способствует прогрессированию микротромбообразования.

Тяжелая термическая травма сопровождается повреждением циркулирующих эритроцитов. Обнаружение в крови облегченной фракции (поврежденных) эритроцитов имеет важное значение для диагностики ДВС-синдрома [24, 25]. Поврежденные эритроциты являются источником АДФ и фосфолипидов клеточных мембран, которые способствуют активации свертывающей системы крови и агрегации тромбоцитов.

Как показали наши исследования, у больных с термической травмой через сутки от момента ожога зафиксировано повреждение эритроцитов в 39% случаев наблюдений, а через двое суток — в 46%. Число пострадавших, у которых выявляется положительный тест на повреждение эритроцитов, продолжает возрастать до 5–6-х суток наблюдения за больными и достигает 74%. В дальнейшем этот показатель остается на достаточно высоких цифрах и колеблется в различные сроки от момента термической травмы в пределах от 78 до 91%. Вышеизложенное свидетельствует о высокой частоте выявления поврежденных эритроцитов, что в совокупности с результатами исследования других показателей системы гемостаза подтверждает

развитие у пострадавших от термической травмы синдрома ДВС. При этом частота обнаружения поврежденных эритроцитов в образцах крови в группе умерших больных превышала таковую в группе выживших (*p<0,01*).

Одной из причин фрагментации эритроцитов является их прохождение через микрососуды, заблокированные нитями фибрина. При этом активно формируются эритроцитарные тромбы и сладжи, которые способствуют возникновению и нарастанию расстройств микроциркуляции, гипоксии и снижению специфических функций органов, истощению адаптационных возможностей организма в целом, дальнейшему прогрессированию гемостазиологических расстройств, затруднению репарации ожоговых ран, приживлению трансплантатов, возникновению опасных для жизни пациента осложнений, таких как сепсис, негативно влияя на исход заболевания [23, 26].

Глубина тромбоцитопении отражает тяжесть ДВС-синдрома [27, 28]. По нашим данным, тяжелая термическая травма вызывает значительные изменения уровня тромбоцитов. Исследование количества тромбоцитов у пациентов в острый период ожоговой болезни показало, что в зависимости от исхода патологического процесса, динамика снижения числа тромбоцитов имеет некоторые различия. В группе выживших больных динамика носит двухфазный характер: 1 фаза – снижение количества тромбоцитов (1–4-е сутки), 2-я фаза – повышение содержания кровяных пластинок до уровня нормы (5–12-е сутки). В группе умерших больных кривая динамики содержания тромбоцитов на протяжении всего срока наблюдения за пациентами находится ниже таковой группы выживших больных и носит трехфазный характер: 1 фаза — снижение содержания тромбоцитов (1–2-е сутки), 2 фаза – стойкая тромбоцитопения (3–9-е сутки), 3 фаза — незначительное повышение содержания тромбоцитов (10–12-е сутки). Появление тромбоцитопении уже на первые сутки после травмы и сохранение ее в течение первых девяти суток после ожога является неблагоприятным признаком течения ожоговой болезни.

Выявлена отчетливо выраженная отрицательная корреляция содержания в крови пациентов тромбоцитов и тяжести ДВС-синдрома: наиболее выраженное снижение количества тромбоцитов в анализируемых образцах наблюдается среди пациентов, у которых зафиксирована более тяжелая форма ДВС-синдрома по данным ИПДВС. Зависимость между числом тромбоцитов и величиной ИПДВС является статистически значимой (*p<0,001*).

Защита от распространения тромбообразования и поддержание жидкотекучего состояния крови осуществляется с помощью эффективной системы антикоагулянтов, которые регулируют этот процесс. Одним из наиболее мощных физиологических антикоагулянтов является антитромбин III (АТ III). У пациентов с тяжелой ожоговой травмой отмечается падение активности АТ III, начиная с первых суток от момента ожога и до конца наблюдения.

Сравнительный анализ динамики активности АТ III в зависимости от исхода патологического процесса выявил, что различия активности этого антикоагулянта в группе выживших и умерших больных были статистически значимыми при высокой степени достоверности (*p<0,001*). В группе умерших больных за весь период наблюдения в 92,9% исследований регистрировалось снижение активности АТ III, а в группе выживших — в 73,6%. При этом в различные сроки от момента ожога усредненная активность АТ III в группе умерших больных падала от 63,3 до 55,8%, а в группе выживших — от 75,1 до 69,5%. Наиболее низкие значения активности АТ III (40–49%) коррелировали со 100% гибелью больных, в то время как при высоком уровне этого показателя (80% и более) – летальность составила 16%.

Анализ корреляционных отношений активности АТ III и тяжести ДВС-синдрома позволил выявить отчетливо выраженную отрицательную связь изучаемых параметров при высокой степени достоверности ($r = -0,612$; $p < 0,001$): снижение активности АТ III сопровождается возрастанием тяжести ДВС-синдрома и свидетельствует о глубокой декомпенсации систем регуляции свертывания крови.

Полученные результаты подтверждаются данными литературы. *R. L. Bick и E. P. Frenkel* [7], *Л. П. Папаян и Б. А. Барышев* [29] рассматривают АТ III как ключевой тест для диагностики ДВС-синдрома, так как его активность отражает адаптационные возможности системы гемостаза и меру адекватности ее ответа на стрессовый фактор. По мнению *Я. А. Жизневского* [30], *Г. П. Котельникова и И. Г. Чеснокова* [31], ДВС-синдром – это проявление не столько силы коагуляционного, сколько слабости антикоагулянтного звена системы гемостаза.

Повышенная тромбоопасность у пациентов в острый период ожоговой болезни обусловлена также снижением активности протеинов С и S, являющихся важным компонентом регуляторной системы, которая ингибирует факторы Va и VIIIa. Угнетение протеинов С и S наблюдалось в течение всего острого периода ожоговой болезни с максимальным снижением их активности (56%) на 3–4-е сутки после термической травмы. По мнению *M. Levi et al.*[32], *H. ten Cate et al.* [33], *H. Wada et al.* [9] снижение активности АТ III, протеинов С и S является неотъемлемым спутником активации внутрисосудистого свертывания крови и показателем системного повреждения эндотелиальных клеток сосудов, что способствует прогрессированию синдрома ДВС.

Изучение главного компонента фибринолитической системы — плазминогена, профермента сериновой эндопептидазы плазмина, способного лизировать фибрин, показало его снижение у обожженных. Концентрация плазминогена существенно снижается, особенно в период с первых по четвертые сутки после травмы. Минимальные значения параметра (62%) зафиксированы на вторые сутки от момента ожога. Падение показателя оказалось более выраженным в группе впоследствии умерших больных, что особенно заметно во 2-й половине периода наблюдения за пострадавшими. Обнаружение низких значений анализируемого параметра в группе умерших больных за весь период наблюдения было в 2 раза чаще, чем в группе выживших, а на 7–9-е сутки после ожога это различие достигало почти четырехкратной величины.

Результаты проведенного исследования состояния XIIa-зависимого фибринолиза (XIIa-ЗФ) свидетельствуют о резко выраженном угнетении этой системы в острый период ожоговой болезни. Падение фибринолитического потенциала отмечалось с первых суток от момента термической травмы и продолжалось до конца наблюдения за пострадавшими. Уже через сутки после ожога активность XIIa-ЗФ была угнетена по сравнению с исходными данными приблизительно в 8 раз и находилась в пределах 39,2±5,14 мин, а через трое суток усредненное значение времени лизиса эуглобулинового сгустка достигало более 86,1±7,21 мин.

По мнению *И. Л. Доценко и соавт.* [34], *Б. И. Кузника и соавт.* [35], *Г. А. Яровой и соавт.* [36], а также по нашим данным, основными причинами, вызывающими угнетение XIIa-ЗФ, могут быть: снижение концентрации плазминогена, увеличение содержания ПАИ-1, фибриногена и деградация белков контактной системы (факторов XII, XIIa, прекалликреина, калликреина, высокомолекулярного кининогена) под действием протеиназ, освобождаемых клетками крови при патологических состояниях.

Как показали результаты исследования корреляции активности XIIa-ЗФ и тяжести ДВС-синдрома по данным ИПДВС, зависимость изучаемых признаков оказалась максимальной (*r=+0,673; p<0,001*): время лизиса эуглобулинового сгустка увеличивалось с возрастанием тяжести синдрома ДВС.

Учитывая, что в настоящее время при оценке функционального состояния системы гемостаза предпочтение отдают результатам не отдельных ее параметров, а их совокупности [37, 38], нами разработаны интегральные показатели.

Интегральный показатель антикоагулянтно-фибринолитического потенциала (ИПАФП) крови был рассчитан на основании результатов определения в крови тяжелообожженых активности АТ III, протеинов С и S, XIIa-ЗФ, а также концентрации плазминогена [3]. На протяжении всего острого периода ожоговой болезни были выявлены глубокие расстройства противосвертывающих систем крови у пострадавших. Наименьшая величина ИПАФП приходилась на вторые сутки с момента ожога, отличаясь от аналогичного параметра обследованных в контрольной группе в 2,3 раза.. В последующие сроки наблюдения (3–12-е сутки) зарегистрировано постепенное возрастание величины ИПАФП, свидетельствующее о незначительной активации противосвертывающих систем крови, однако так и не достигшее нижней границы диапазона нормы. Анализ частоты выявления различных значений ИПАФП у пациентов в зависимости от исхода ожоговой болезни показал, что среди выживших больных около 30% имели значения интегрального показателя в пределах нормы, 40% — недостаточный уровень ИПАФП, 30% — критический. В группе умерших более 80% пациентов имели критический уровень значений интегрального показателя. Высокая степень корреляции показателей, на основании которых вычисляют антикоагулянтно-фибринолитический потенциал, с тяжестью ДВС-синдрома свидетельствует о том, что угнетение противосвертывающих механизмов в острый период ожоговой болезни является одной из основных причин развития и про-

грессирования ДВС-синдрома.

Частым клиническим проявлением ДВС-синдрома в острый период ожоговой болезни является почечная и печеночная недостаточность как показатель полиорганной недостаточности. Почки и печень относятся к органам-мишеням, которые поражаются при развитии ДВС-синдрома после массивного ожога [39–40]. На основе биохимических исследований сыворотки крови, характеризующих функциональное состояние почек и печени, нами предложен интегральный показатель почечно-печеночной недостаточности (ИППНП) у пациентов с термической травмой [4]. На протяжении всего срока наблюдения за больными значения ИППНП статистически значимо отличались от нормы, достигая максимальной величины на 2–4-е сутки от момента травмы. Больные в группе погибших пациентов по данным регистрации ИППНП имели достоверно более тяжелую гепаторенальную недостаточность во все сроки наблюдения, чем в группе выживших. При площади ожога, превышающей 20% поверхности тела, гепаторенальная недостаточность выявлялась в 97,1% исследований. Из них тяжелая и крайне тяжелая форма почечно-печеночной недостаточности зарегистрирована в 42,4% наблюдений, из которых 69,4% — в группе умерших пациентов. Почечно-печеночная недостаточность легкой и средней степени тяжести была зафиксирована в 54,7% исследований, из них 72,3% — в группе выживших больных. Выявлена отчетливо выраженная и статистически значимая положительная корреляция интегрального показателя гепаторенальной недостаточности и тяжести ДВС-синдрома по данным ИПДВС ($p<0,001$): возрастание глубины нарушений функции почек и печени сопровождается увеличением тяжести синдрома ДВС. Это позволяет включить ИППНП, наряду с результатами исследования системы гемостаза с помощью общепринятых гемостазиологических методов, в комплекс тестов для диагностики ДВС-синдрома при ожоговой болезни.

Нами разработан способ диагностики синдрома ДВС, позволяющий не только выявлять это осложнение, но и количественно характеризовать глубину патологического процесса [5]. Это особенно важно для анализа динамики развития ДВС-синдрома и контроля за его течением. Способ реализован путем вычисления интегрального показателя ДВС-синдрома. Он основан на использовании результатов лабораторных тестов — наиболее информативных гемостазиологических параметров (определение активности АТ III, XIIa-ЗФ, содержания РФМК, подсчета количества тромбоцитов, выявления в образцах крови фрагментированных эритроцитов) и расчета интегрального показателя почечно-печеночной недостаточности, отражающего выраженность полиорганных нарушений в остром периоде ожоговой болезни. ИПДВС в условиях нормы составляет 6,2 ед. и ниже. При латентной (легкой) форме ДВС-синдрома ИПДВС варьирует в интервале от 6,3 до 10,0 ед. Значения показателя от 10,1 до 14,6 свидетельствуют о синдроме ДВС средней тяжести (подострая форма), а свыше 14,7 — о тяжелом (остром) ДВС-синдроме. Данный способ позволил установить, что при тяжелой ожоговой травме ДВС-синдром является закономерным нарушением системы гемостаза и проявляется разнообразными по тяжести формами (от латентной до острой). Изучение динамики усредненных значений ИПДВС в острый период ожоговой болезни позволило выявить, что максимальные величины показателя, соответствующие острой форме ДВС-синдрома, отмечались со вторых по четвертые сутки в группе выживших больных и со 2-х по 12-е сутки — в группе умерших. Таким образом, сохранение острой формы ДВС-синдрома более 4 суток с момента термической травмы можно рассматривать преимущественно как признак неблагоприятного исхода ожоговой болезни.

Выявленные нарушения системы гемостаза у больных с термической травмой согласуются с результатами гистоморфологических исследований внутренних органов погибших в острый период ожоговой болезни, которые были выполнены в нашем институте *И. Р. Вазиной* [41]. В препаратах головного мозга, сердца, легких, печени, почек, поджелудочной железы в микроциркуляторном русле были выявлены прямые морфологические признаки ДВС-синдрома — микротромбы различной природы — фибриновые, тромбоцитарные и смешанные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали полученные результаты, тяжелая термическая травма относится к ДВС-опасной базисной патологии, которая является мощным индуктором инициации и прогрессирования синдрома ДВС. При тяжелых ожогах ДВС-синдром является закономерным нарушением системы гемостаза в периоды шока и острой токсемии. Он характеризуется высоким уровнем тромбинемии, снижени-

ем активности эндогенных антикоагулянтов, выраженной депрессией XIIa-зависимого фибринолиза, существующих на фоне гиперфибриногенемии, умеренной тромбоцитопении и фрагментации эритроцитов, а также гепаторенальной недостаточности, которая является частным вариантом полиорганной недостаточности. Являясь одним из основных звеньев патогенеза ожоговой болезни, синдром ДВС возникает непосредственно после ожога, коррелирует с тяжестью травмы, проявляется, как правило, в острой и подострой формах, динамично переходя из одной формы в другую в зависимости от характера течения патологического процесса [42, 43].

На основе корреляционного анализа нами выявлено, что наиболее информативными тестами для лабораторной диагностики ДВС-синдрома в острый период ожоговой болезни являются активность АТ III и XIIa-зависимого фибринолиза, содержание РФМК по данным ортофенантролинового теста, а также интегральный показатель гепаторенальной недостаточности. К лабораторным тестам средней степени информативности следует отнести подсчет количества тромбоцитов в образцах крови и некоторые структурные показатели — обнаружение поврежденных эритроцитов, определение концентрации фибриногена. Хронометрические тесты (АЧТВ, ПВ, ТВ) являются менее информативными, они могут быть использованы в качестве вспомогательных для решения некоторых частных вопросов в процессе диагностики ДВС-синдрома (определение фазы синдрома ДВС).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Патент 2134421 (РФ), МПК G 01 №3/50. Способ подготовки раствора верографина для обнаружения легкой фракции эритроцитов / М. В Преснякова., В. Г. Сидоркин, А. Н. Сидоркина (РФ) // Изобретения (заявки и патенты). — 1999. — № 22*
2. *Патент 2225002 РФ, МПК G 01 №3/48 Способ выявления легкой фракции эритроцитов / Преснякова М. В., В. Г. Сидоркин, А. Н. Сидоркина (РФ) // Изобретения (заявки и патенты). — 2004. — № 6.*
3. *Патент 2246730 РФ, МПК G 01 №3/49 Способ оценки антикоагулянтно-фибринолитического потенциала крови при ожоговой болезни / М. В. Преснякова, В. Г. Сидоркин, А. Н. Сидоркина (РФ) // Изобретения (заявки и патенты). — 2005. — № 5.*
4. *Патент 2223496 РФ, МПК G 01 №3/50. Способ диагностики тяжести печеночно-почечной недостаточности при ожоговой болезни /М. В. Преснякова, В. Г. Сидоркин, А. Н. Сидоркина (РФ) // Изобретения (заявки и патенты). — 2004. — №4.*
5. *Патент 2257574 РФ, МПК G 01 №3/53. Способ диагностики диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови при ожоговой болезни / Преснякова М. В., Сидоркин В. Г., Сидоркина А. Н. (РФ) // Изобретения (заявки и патенты). — 2005. — № 21.*
6. *Литвинов Р. И., Харин Г. М. Биохимические и морфологические критерии диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Казан. мед. журн. — 2001. — №. — С.122-127.*
7. *Bick R. L., Frenkel E. P. Disseminated intrevascular coagulation: clinical and pathophysiological mechanisms and manifestations // Lectures 15th international congress on thrombosis. — Antalya-Turkey, 1998. — P. 209-230.*
8. *Kowal-Vern A., Gamelli R. L., Walenga J. M. et al. The effect of burn size on hemostasis: a correlation of the hemostatic changes to the clinical state // J. Trauma. — 1992. — V. 33, №. — P. 50-57.*
9. *Wada H., Sakura N., Mori Y. et al. Hemostatic molecular marker before the outset of disseminated intravascular coagulation // Am. J. Hematol. — 1999. — V. 60, №. — P. 273-278.*
10. *Fuller D. C., Otto J. M., Woloski B. B. et al. The effect of hepatocyte — stimulating factors on fibrinogen biosyntesis in hepatocyte monolayer // J. Cell. Biol. — 1985. — V. 101. — P. 1481-1486.*
11. *Скипетров В. П., Власов А. П., Голышенков С. П. Коагуляционно-литическая система тканей и тромбогеморрагичекий синдром в хирургии. — Саранск: Красный Октябрь, 1999. — С. 52-57.*
12. *Вазина И. Р. Функциональная морфология легких при термической травме: Автореф. дис.... д-ра мед. наук. — Горький, 1988. — 48 с.*
13. *Каррыева Б. Ч., Козловская Л. В. Значение изменений адгезивных белков при заболеваниях почек // Терапевт. арх. — 1992. — №. — С. 110-114.*
14. *Чурляев Ю. А., Лычев В. Г., Епифанцева Н. Н. и др. Диагностика и лечение ДВС-синдрома у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой // Анастезиология и реаниматология. — 1995. — №. — С. 29-32.*
15. *Момот А. П. Мембранная активация свертывания крови, маркеры тромбинемии при ДВС-синдроме (разработка и апробация новых диагностических тестов): Автореф. дисс.... докт. мед. наук. — Барнаул, 1997. — 37 с.*
16. *Bick R. L., Arun B., Frenkel E. P. Disseminated intravascular coagulation, clinical and pathophysiological mechanisms and manifestations // Haemostasis. — 1999. — V. 29, №-3. — P. 111-134.*
17. *Muller-Berghaus G., ten Cate H., Levi M. Disseminated in-*

travascular coagulation clinical spectrum and established as well as new diagnostic approaches // Thromb. Hemost. — 1999. — V. 82, №. — P. 706-712.

18. Преснякова М. В., Сидоркина А. Н., Сидоркин В. Г. Сравнительная оценка паракоагуляционных тестов у больных с термической травмой // VI съезд травматологов и ортопедов России: Тез. докл. — Н. Новгород, 1997. — С. 131.

19. Балуда М. В., Тлепшуков И. К. О диагностике предтромботического состояния системы гемостаза // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2001. — № (5). — С. 19-21.

20. Баркаган З. С., Момот А. П. Основы диагностики нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед-АО, 1999. — С. 35-41.

21. Папаян Л. П., Князева Е. С. Д-димер в клинической практике. Пособие для врачей. / Под ред. Н. Н. Петрищева. — М.: ООО «Инсайт полиграфик», 2002. — 20 с.

22. Федоткина Ю. А., Добровольский А. Б., Кропачева Е. С. и др. // Диагностическое и прогностическое значение Д-димера в клинике внутренних болезней / Тер. арх. — 2003. — № 12 — С. 66 — 69.

23. Bick R. L., Baker W. F. Disseminated intravascular coagulation // Haematologic Pathology. — 1992. — №. — P. 1-24.

24. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Издание 2-е дополненное. — М.: Ньюдиамед-АО, 2001. — С. 165-167.

25. Muller-Berghaus G., ten Cate H., Levi M. Disseminated intravascular coagulation //. Cardiovascular Thrombosis: Thrombocardiology and Thromboneurology. — 2 nd Ed. — New York: Lippincott-Rower Publishers, 1998. — P. 781-799.

26. Литвинов Р. И. Клинические и патофизиологические аспекты диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови // Казан. мед. журн. — 2000. — №. — С. 48-52.

27. Васильев С. А., Берковский А. Л., Антонова О. А., Мазуров А. В. Тромбоцитопении: патогенез, дифференциальная диагностика и основы терапии // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2000. — №. — С. 6-15.

28. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови. / Пер. с англ. — М. — СПб.: БИНОМ; Невский Диалект, 2000. — С.149–190.

29. Папаян Л. П., Барышев Б. А Особенности патогенеза и диагностики ДВС-синдрома // Матер. 2-й науч. — практ. конф. «Актуальные проблемы гемостазиологии». — Архангельск, 2002. — С. 82 — 95.

30. Жизневский Я. А. Основы инфузионной терапии: Справочно-практическое пособие. — Минск: Вышэйшая школа, 1994. — С. 138-158.

31. Котельников Г. П., Чесноков И. Г. Травматическая болезнь. — М.: Медицина, 2002. — С. 97-112.

32. Levi M., Jonge E., Poll T., ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation // Thromb. Hemost. — 1999. — V. 82, №. — P. 695-705.

33. ten Cate H., Timmerman J. J., Levi M. The pathophysiology of disseminated intravascular coagulation // Thromb. Hemost. — 1999. — V. 82, №. — P. 713-717.

34. Доценко И. Л., Нешкова Е. А., Ручнес Э. и др. Действие лейкоцитарной эластазы на высокомолекулярный кининоген плазмы крови человека в присутствии альфа-1 протеазного ингибитора. Анализ протеолитической деградации // Вопр. мед. химии. — 2001. — Т. 47, вып.1. — С. 55-71.

35. Кузник Б. И., Баркаган З. С. Современные представления о процессе свертывания крови, фибринолизе и действии естественных антикоагулянтов // Гематология и трансфузиология. — 1991. — №1. — С. 22-25.

36. Яровая Г. А., Блохина Т. Б., Нешкова Е. А. Контактная система. Новые представления о механизмах активации и биорегулирующих функциях // Биохимия. — 2002. — Т.67, №. — С. 16-30.

37. Крашутский В. В., Проскурин В. М. Прогностическое значение изменений системы гемостаза при массивной тромбоэмболии легочной артерии // Клинич. медицина. — 1997. — №0. — С. 38-41.

38. Ройтман Е. В., Дементьева И. И., Леткова С. Ф. Анализ метода расчета гемостатического потенциала и возможности его клинического использования // Клинич. лаб. диагностика. — 1999. — №. — С. 36-39.

39. Харин Г. М. Печень при травматической и ожоговой болезни: (структурно-метаболические аспекты повреждения и адаптации): Автореф. дисс.... д-ра мед. наук. — Казань, 1992. — 44 с.

40. Holliday M. A., Friedman A. L., Wassner S. S. Extracellular fluid restoration in dehydration: a critique of rapid versus slow // Pediatr. Nephrol. — 1999. — V. 10, — №. — P. 424-429.

41. Вазина И. Р., Преснякова М. В., Сидоркина А. Н. Внутрисосудистые морфологические проявления синдрома ДВС у обожженных // Нижегород. мед. журн. — 2004. — Прил. «Комбустиология». — С. 68-69.

42. Сидоркина А. Н., Сидоркин В. Г., Преснякова М. В. Биохимические основы системы гемостаза и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. — 3-е изд., перераб. и доп. — Н. Новгород: ННИИТО, 2005. — 112 с.

43. Преснякова М. В. Состояние системы гемостаза в норме и при развитии диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови: Автореф.... дисс. канд. биол. наук. — Н. Новгород, 2004. — 19 с.

аренда сервера
от $95/мес.

установка сервера
$25/мес. за1U

подключение к сети
$65/мес.

цена за 1Гб от $25

*все налоги включены

ZENON N.S.P.
www.zenon.net

Размещение серверов в Центре хранения и обработки данных:

- опорная сеть 1 Гбит/с
- бесперебойное электропитание с двойным резервированием и ДГУ
- система климатического контроля
- круглосуточный мониторинг оборудования
- круглосуточная техническая поддержка
- балансировка нагрузки, фильтры и другие дополнительные услуги

тел:(095) 232-3797
www.host.ru
e-mail: access@zenon.net

Показатели гемостаза, реологические свойства крови и функциональное состояние эндотелия при остром венозном тромбозе вен нижних конечностей

С. В. Багракова, Е. Н. Бырихин
Ярославская государственная медицинская академия

Haemostasiological Parametrs, Hemorheology And Functional State Of The Endothelium In Acute Venous Thrombosis Low Extremities

S. V. Bagrakova, E. N. Birikhin
Yaroslavl State Medical academy

We studied hemorheology (whole blood viscosity, erythrocyte suspension viscosity, plasma viscosity, hematocrit, erhytrocyte sedimentation rate), and a state of coagulant system (protein C and antithrombin III, plasminogen activities, thrombine, prothrombine and activated partial thromboplastin times, fibrinogen, and soluble fibrin monomers levels) and also von Willebrand factor antigen in 20 patients with venous thrombosis low extremities.

Activation of plasma-coagulation hemostasis is a key peculiarity of acute venous thrombosis. The main factor is impairment of an anticoagulant defense. Impairment of erythrocyte deformability is two factor of the pattern of hemostasis. Activation of coagulant potential is associated to fibrin formation and to deactivation of natural anticoagulants together with endothelial cell activation.

Key word: *acute venous thrombosis — erythrocyte suspension viscosity — plasma viscosity — protein C activities — antithrombin III activities — von Willebrand factor antigen.*

Согласно официальной статистике США тромботические поражения вен нижних конечностей обнаруживаются ежегодно у 260000 человек [18]. В странах Западной Европы в частности Дании, Швеции, показатели годовой распространенности составляют — 1,5–2 случая на 1000 населения [1, 2]. Известно, что важную роль в развитии тромбозов наряду с такими известными тромбогенными факторами, как гиперкоагуляционные изменения крови, усиление адгезии и агрегации тромбоцитов, большое значение придается нарушениям реологических свойств крови, в частности вязкости, агрегации эритроцитов, гематокриту и другим параметрам.

Однако, за последнее время значительно изменились представления об основных причинах тромбозов магистральных вен нижних конечностей. Накопленные к настоящему времени факты позволяют считать значительную часть венозных тромбозов генетическими или приобретенными дефектами в плазменном звене гемостаза [7, 10, 12, 14, 19]. Полагают, что на долю, нарушений обусловленных снижением выработки АТIII, протеина С, протеина S и APC-резистентности приходится более 50% случаев тромбозов вен нижних конечностей [13].

Следовательно, выявление степени нарушений реологических и коагуляционных показателей крови, а также реакции активации или повреждения сосудистого эндотелия и установление корреляционной связи между этими показателями у больных острым тромбозом вен нижних конечностей имеет большое значение как для разработки принципов медикаментозной терапии этого заболевания, так и для оценки адекватности проводимого лечения.

Таким образом, целью данного исследования было изучение некоторых показателей плазменно-коагуляционного гемостаза, реологических свойств крови, а также реакции активации сосудистого эндотелия у больных острым тромбозом вен нижних конечностей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 20 больных, все мужчины, в возрасте от 33 до 49 лет, в среднем 43,8±4,8 года. Из них у 4 пациентов имел место тромбоз глубоких вен голеней. У 5 тромбы локализовались в поверхностных и глубоких венах и у 11 больных диагностированы тромбозы поверхностных вен на фоне варикозной болезни.

В качестве контроля обследована группа, состоящая из 24 практически здоровых мужчин, в возрасте от 19 до 36 лет (средний возраст 25,8±6,2 года).

Определяли следующие показатели плазменно-коагуляционного гемостаза: активированное частичное тромбопластиновое времена (АЧТВ), протромбиновое (ПВ), тромбиновое времена (ТВ), концентрацию фибриногена рас-

Таблица 1

Исследуемые плазменно-коагуляционные и гемореологические показатели у больных венозным тромбозом и доноров (M±σ)

Показатель	Больные венозным тромбозом (*n=20*)	Контроль (*n=24*)	P
АЧТВ (секунды)	33,9±3,8	38,0±3,6	p<0,01
ТВ (секунды)	13,5±2,6	16,6±1,5	p<0,001
ПВ (секунды)	19,7±3,0	19,4±1,1	p>0,05
Фибриноген (г/л)	4,2±0,9	2,6±0,8	p<0,01
РФМК ($\times 10^{-2}$ г/л)	7,6±1,1	4,6±1,3	p<0,001
Активность протеина С (%)	135,2±40,8	98,2±24,5	p<0,05
Активность АтIII (%)	82,5±15,2	101,7±12,0	p<0,01
Активность плазминогена (%)	106,8±27,2	87,8±10,9	p>0,05
ВК-1(мПа·с), при τ=1Па	3,97±0,62	3,75±0,3	p>0,05
ВК-2 (мПа·с), при τ=0,2Па	5,7±1,3	5,8±1,0	p>0,05
ВС-1 (мПа·с), при τ=1Па	2,4±0,2	2,5±0,1	p>0,05
ВС-2 (мПа·с), при τ=0,2Па	4,1±0,4	3,9±0,2	p<0,01
Гематокрит (%)	46,02±5,42	47,28±3,15	p>0,05
ВП (мПа·с)	1,41±0,10	1,32±0,05	p<0,01
ПА (отн. ед.)	1,61±0,29	1,92±0,14	p<0,001
СОЭ (мм/ч)	16,85±12,16	3,79±2,82	p<0,001
ФВ: Аг (Ме/л)	1,3±0,9	0,8±0,4	p<0,05
СРБ (мг/л)	1,6±0,5	1,2±0,8	p>0,05

творимые комплексы фибрин-мономера (РФМК) коагулометрическим методом с использованием реактивов фирмы «НПО РЕНАМ», Москва. Активность протеина С, активность антитромбина III и активность плазминогена оптическим методом с хромогенным субстратом с использованием реагентов НПО «РЕНАМ» на спектрофотометре Labsystems iEMS Analyser (Финляндия, при длине волны 405нм).

Оценка реологических свойств крови включала определение кажущейся вязкости цельной крови (ВК), плазмы (ВП), суспензии эритроцитов (ВС), (Ht=45%) в трис-HCl-буфере на капиллярном вискозиметре при высоком — 1Па и низком — 0,2 Па напряжениях сдвига. Показатель гематокрита (Ht) определяли с помощью центрифугирования при 9 тыс. об./мин. в течение 10 мин.

СОЭ регистрировали в вертикальных капиллярах Панченкова общепринятым способом. Показатель агрегации (ПА) рассчитывали на основании СОЭ (*L. Dintentenfass*, 1977).

Активацию или повреждение сосудистого эндотелия, а также острофазовый ответ организма оценивали по концентрации антигена фактора Виллебранда (ФВ: Аг) и уровню С-реактивного белка (СРБ) твердофазным иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов фирмы DAKO (Дания), SIGMA (США) на спектрофотометре Labsystems iEMS Analyser (Финляндия, при длине волны 492нм).

При статистической обработке материалов использовали методы оценки достоверности различий с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, корреляционный и факторный анализы выполненные в программе Statistica 5.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Средние значения исследуемых показателей представлены в **таблице 1**.

Отмечено, что в общей группе больных практически все гемокоагуляционные показатели достоверно отличались от контроля. Так, значения АЧТВ в группе больных острым венозным тромбозом было достоверно меньше, по сравнению с контролем (*p<0,01*). Показатель тромбинового времени был ниже контрольных значений у 59% пациентов *(p<0,001*). Протромбиновое время составило 19,7±3,0 сек. и практически не различалось в сравниваемых группах.

Повышение концентрации фибриногена обнаружено у 53% больных венозным тромбозом (*p<0,01*), а уровень РФМК превышал верхнюю границу нормы в 76% случаев (*p<0,001*).

Активность протеина С была повышена у 41% больных, по сравнению с группой контроля (*p<0,05*). У оставшихся 59% активность данного антикоагулянта находилась в пределах нормальных значений.

Активность АТIII при венозных тромбозах составила 82,5±15,2%, и оказалась достоверно ниже в сравнении с контрольной группой (101,8±12,1%, (*p<0,01*). Подобная закономерность прослежена и в отношении активности плазминогена. Так, при венозных тромбозах она составила 106,8±27,2%, а в контрольной группе — 87,8±10,9% (*p<0,05*).

При исследовании реологических свойств крови в группе больных ВТНК не было зарегистрировано достоверных изменений ни кажущейся вязкости цельной крови при изученных напряжениях сдвига, ни гематокрита в отличие от группы контроля.

Значительно повышалась вязкость суспензии эритроцитов при низких напряжениях сдвига. Повышение данного показателя наблюдалось у 47% обследуемых, (*p<0,01*). Подобная закономерность выявлена и при исследовании вязкости плазмы, у 52,9% больных значения этого показателя превышали верхнюю границу нормы (*p<0,05*). Снижение показателя агрегации отмечалось у 52% больных с венозной патологией, (*p<0,01*).

У больных с венозными тромбозами отмечено достоверное повышение концентрации ФВ: Аг и по сравнению с контролем (*p<0,05*).

Концентрация С-реактивного белка в сравниваемых группах практически не различалась.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование указывает на то, что у больных венозным тромбозом состояние прокоагулянтного звена характеризовалось выраженной гиперкоагуляцией. Отмечено достоверное укорочение АЧТВ (*p<0,01*) и сокращение ТВ у 58% больных. Отсутствие достоверных изменений протромбинового времени свидетельствовало о процессе тромбообразования преимущественно по внутреннему механизму. В данной группе больных наблюдалась активация процессов фибринообразования. Концентрация фибриногена и уровень РФМК значительно превышали контрольные величины. *Б. С. Г. Конюхов и др.* и *А. В. Покровский и др.*, на фоне гиперкоагуляции зарегистрировали нормальную или незначительно повышенную фибринолитическую активности крови [20]. *В. С. Савельев с соавторами* отмечали в своей работе нормо- или гиперкоагуляцию с выраженной активацией фибринолиза у больных венозным тромбозом. [21].

При исследовании антикоагулянтного звена, в данной группе больных, было отмечено снижение активности Ат III, тогда как активность протеина С повышалась. Возможно, повышение активности последнего показателя является компенсаторной реакцией на снижение его уровня, что отмечено некоторыми авторами [11].

Снижение уровня АТ III, как правило, сопровождает венозные тромбозы, а достоверный коэффициент корреляции R=–0,50 (*p<0,05*) между активностью АТ III и ТВ подтверждает положение о том, что АТ III является одним из наиболее важных регуляторов фибринообразования [9].

Особенности патогенеза острого венозного тромбоза предполагают изменение реологических свойств крови. В ряде исследований установлено, что вязкость венозной крови у пациентов с ВТ значительно отличается от таковых у лиц из контрольных групп [16]. Это связано, по мнению большинства авторов [15, 17] с повышением уровня фибриногена в плазме крови и гиперагрегацией эритроцитов. В других работах акцентируют внимание на повышение гематокрита [8].

В нашем исследовании не было зарегистрировано достоверных изменений ни кажущейся вязкости цельной крови при изученных напряжениях сдвига, ни гематокрита, хотя была отмечена достоверная корреляционная связь между этими показателями. Полученные данные о том, что при ВТ вязкость крови и основные параметры, ее определяющие, достоверно не отличаются от показателей контроля, и свидетельствуют, что гемореологические нарушения вторичны по отношению к развитию флебогипертензии. Отсутствие статистически достоверных изменений макрореологии может быть объяснено нормальными цифрами гематокрита на этой стадии процесса. Вместе с тем, нельзя полностью игнорировать тенденцию к увеличению вязкости крови, гематокрита, ухудшению микрореологических характеристик у этих пациентов, поскольку сравниваемые группы немногочисленны.

Тем не менее, отмечено значительное повышение вязкости плазмы у 52% обследуемых и вязкости суспензии при низкой скорости сдвига у 47% (*p<0,01*). Повышение агрегации эритроцитов в нашем исследовании, также у 47% пациентов, подтверждает мнение некоторых исследователей [5] о первичности изменения именно этого параметра реологического профиля.

ФВ: Аг занимает в системе гемостаза особое место, поскольку он определяет уровень адгезии тромбоцитов к патологически измененной стенке кровеносного сосуда, являясь важным промежу-

точным звеном взаимодействия тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, отражает степень поражения сосудистого эндотелия. Нами выявлено повышение концентрации ФВ: Аг у больных венозным тромбозом.

О. А. Цигулева [22] выявила повышение среднего уровня ФВ в плазме, причем при тромбозе глубоких вен значения были достоверно выше, чем при тромбозе поверхностных.

Несмотря на достоверное отличие значений СОЭ в сравнении с контрольной группой ($p<0,001$), мы не обнаружили существенного повышения уровня СРБ при венозном тромбозе, как и другие исследователи [4, 6].

Различные взаимосвязи между показателями гемостаза, маркерами активации эндотелия и параметрами текучести крови свидетельствуют о возможных механизмах патогенеза венозного тромбоза.

Таким образом, на основе проведенного факторного анализа, можно сделать вывод, что острый тромбоз вен нижних конечностей характеризуется выраженной активацией плазменно-коагуляционного гемостаза. «Фактор нарушения антикоагулянтной активности» является превалирующим, вторым по значимости является «фактор нарушения деформации эритроцитов». При венозном тромбозе нижних конечностей напряжение свертывающего потенциала определяется ускорением процессов фибринообразования и дезактивацией естественных антикоагулянтов на фоне активации эндотелия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Cerrfto D., Ariano C., Deep vein thrombosis and low-dose heparin prophilaxis in neurosurgical patiens //J. Neurosurg. 1978, Vol. 49, P. 378 — 379.*
2. *Cotton L., Roberts V. The prevention of deep vein thrombosis with particular reference to mechanical metods of prevention //Surgery. 1977, Vol. 81, №. P. 228 — 235.*
3. *Dintenfass L. Theoretical aspects and clinical application of the blood viscosity egyation containing a term for the internal viscosity of the red cell. //Blood Cells. 1977. Vol. 3. № 2. P. 367—374.*
4. *Jossang B, Runde I., Diagnostic value of C-reactive protein and D-dimer in deep venous thrombosis Tidsskr Nor Laegeforen. 1992, Mar 30;112(9):1153-5.*
5. *Khodabandehlov T., Le Devehat C., Vimeux M., Hemorheological and microcirculatory features of CVI in relation to severity of diseaese. //Journal of vascular research. Abstracts / 21th European Conference on Microcirculation. Stockholm, June 4-7, 2000.*
6. *Kraaijenhagen R. A., in't Anker P. S., Koopman M. M., Reit sma P. H., Prins M. H., van den Ende A, Buller H. R., High plasma concentration of factor VIIIc is a major risk factor for venous thromboembolism //Thromb Haemost. 2000, Jan;83(1):5-9.*
7. *Lane D. A., Manucci P. M., Bauer K. P., Inherited thrombophilia: part I. //Thromb. Haemost. 1996, Vol. 76, P. 651-652.*
8. *Moyses C., et al. Haemoconcentration and the accumulation of white cells in the feet during venous stasis. // Microcirc Clin Exp. 1997; 5:311-320.*
9. *Rosenberg R. D. The The heparin-antithrombin system: a natyral anticoagulant mechanism // Colman R. V. Hirsh J., et al. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia, Pa: J. B. Lippincott. 1987. 1373-1392.*
10. *Saligsouhn U., Zivelin A., Thrombophilia as a multigenic disorder //Thromb. Haemost. 1997, Vol. 78, P. 297 — 301.*
11. *Smirnov M. D., Safa O., Esmon N. L, Esmon C. T., Inhibition of activated protein C anticoagulant activity by prothrombin // Blood. 1999, 94(11): 3839-46.*
12. *Александрова Н. П., Реологические сойства крови у больных острым венозным тромбозом //Кардиология. 1978, т.18, №8 С. 136 — 138.*
13. *Баешко А. А. Факторы риска тромбоза глубоких вен нижних конечностей //Ангиология сегодня. 2002, №9, С. 9 — 14.*
14. *Бокарев И. Н., Атеротромбоз — проблема современности //Тромбоз, гемостаз и реология. 2000, №1, С. 6 — 7.*
15. *Дж. Берган. Достижения в диагностике и лечении хронической венозной недостаточности. //Ангиология и сосудистая хирургия №2 1996 С.1-15.*
16. *Бредихин Р. А. Голованов Л. А. Изменение гемореологических свойств крови при пост тромбофлебитической болезни. // Материалы второй конференции ассоциации флебологов России. Москва 1999. С.173.*
17. *Дорманди Д. Ю Микроциркуляция и венозные язвы нижних конечностей. // Флеболимфология №5.!997. — С.4-7.*
18. *Машковский М. Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. — М.: Медицина, 1993, Ч.1. — 736 с.*
19. *Патрушев Л. И., Тромбофилические состояния и современные методы их диагностики //Русский мед. журнал. 1999, №3, С. 181 — 185.*
20. *Покровский А. Б., Клионер Л. И., Ноздрачев Ю. И. — Вестник хирургии, 1973, № 6, С. 70 — 73.*
21. *Савельев В. С., Показатели гемостаза при остром венозном тромбозе // Хирургия. 1976, №5, С. 18 — 22.*
22. *Цигулева О. А., Исследование фактора Виллебранда у болдьных с венозными тромбозами //Лабораторное дело. 1988, №2, С. 7 — 9.*

Методы антикоагуляции при проведении заместительной почечной терапии у больных с ПОН и высоким риском развития кровотечения после операций на сердце и сосудах

Л. Г. Балыкбаева
НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, Москва.

Methods Of Anticoagulation During Renal Replacement Therapy In Patients With Pof And High Risk Of Bleeding After Cardiac And vascular surgery

L. G. Balykbaeva
Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, RAMS, Moscow.

We analyzed the results of 114 procedures of renal replacement therapy (RRT) in 55 patients with POF syndrome and high risk of bleeding in early postoperative period after open-heart surgery. We studied different methods of coagulation depending on initial degree of coagulopathy, thrombocytopenia and anemia in 5 groups of patients: without the use of systemic anticoagulation, with the use of modified extracorporeal circuit, with the use of systemic anticoagulation with heparin (3–5 U/kg/hour), low-molecular heparins (0,05 ml/10kg) and regional anticoagulation with heparin and protamine sulfate (1:1). We revealed the feasibility and the usefulness of the use of all methods of anticoagulation during RRT on the condition of differentiated approach and justified choice of methods in patients with high risk of bleeding after cardiac surgery.

Ключевые слова: *экстракорпоральный контур — антикоагуляция — кровотечения.*

ВВЕДЕНИЕ

Нередко, операции на сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) и гипотермии приводят к нарушениям системы гемостаза, носящих гипокоагуляционный характер, а в некоторых случаях с развитием ДВС — синдрома и ПОН. Развитие у больных, перенесших операцию на сердце и сосудах, ОПН, как составляющей синдрома ПОН, значительно ухудшает прогноз течения послеоперационного периода. Частота возникновения ОПН в кардиохирургической практике составляет 27%. Из них более 70% больным требуется временное замещение функции почек [9]. По данным НЦССХ им. А. Н. Бакулева частота геморрагических осложнений у больных после кардиохирургических операций составляет 5,5% случаев [1], а при необходимости проведения им заместительной почечной терапии (ЗПТ) риск возникновения геморрагий возрастает до 26% [28].

Поэтому, **целью** исследования является: определение дифференцированных показаний к применению различных методов антикоагуляции у больных с высоким риском развития кровотечения после операций на сердце и сосудах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основу исследования положен клинический анализ течения ЗПТ в раннем послеоперационном периоде, а также оценка состояния гемостаза и клинико-биохимических показателей у 55 больных с синдромом ПОН, которым за период с 2002 по 2004гг было проведено 114 процедур ЗПТ. Выбор метода антикоагуляции (АК) основывался на определении степени выраженности коагулопатии. В зависимости от применяемого метода антикоагуляции все больные были распределены на три группы: первую — составили больные, которым ЗПТ проводили без использования системной антикоагуляции, вторую — с использованием системной и третью группу — региональной антикоагуляции (РАГ). Пациенты I группы были разделены на две подгруппы. В IA группе (*n=10*) процедуры проводили без использования антикоагулянтов. В IB (*n=10*) — ЗПТ осуществляли с использованием модифицированного экстракорпорального контура (МЭКК). Пациенты II группы также были разделены на две подгруппы: в подгруппе IIA (*n=15*) — с использованием минимальных доз гепарина (3–5 ед/кг/час), а в подгруппе IIB (*n=10*) — с применением фраксипарина (НМГ) в дозе 0,05мл/10кг веса. В третьей группе (*n=10*) использовали РАГ (10 ед/кг/час) с последующей нейтрализацией его протамин сульфатом (10 мг/кг/час).

Большинству больных была выполнена в НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН коррекция клапанной патологии сердца (ППС) (**рис. 1**). Операции у всех пациентов выполнялись в усло-

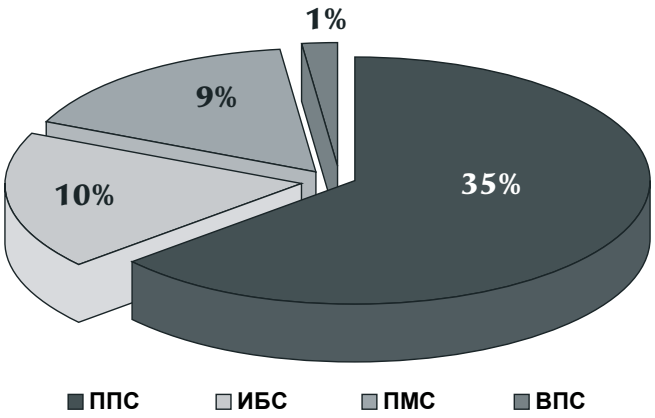


Рис 1. Распределение больных по патологии

виях длительного ИК (273,2±27,63мин) и ишемии миокарда (198,78±49,91мин). Достоверных отличий по возрасту и полу среди распределенных по группам больных нами выявлено не было (**табл. 1**). Степень тяжести состояния пациентов по шкале APACHE-II достигала 29–30 баллов ($p>0,05$) и была обусловлена во всех случаях выраженной сердечной, дыхательной и почечной недостаточностью, а также коагулопатией (**табл. 2**). Количество нарушенных функций жизненно важных органов в группах составила не менее четырех, что и объясняет тяжесть состояния пациентов.

Для поддержания сердечной деятельности всем больным назначались кардиотонические препараты, дозы которых у пациентов I группы были больше (**табл. 3**). Комплексная интенсивная терапия включала в себя медикаментозную терапию печеночной недостаточности, которая была диагностирована примерно у половины обследованных больных. Всем пациентам требовалось проведение ЗПТ (**табл. 4**).

У всех пациентов до начала ЗПТ по лабораторным и клиническим признакам был диагностирован высокий риск развития кровотечения. В IA группе у 57% больных наблюдались геморрагические осложнения: желудочно-кишечные кровотечения и кровотечение из трахеи, гемоперикард. Среди пациентов IB группы кровотечения встречались до начала процедур ЗПТ у 80% больных, которые в ближайшем послеоперационном периоде перенесли эпизоды кровотечений (желудочно-кишечное кровотечение, носовое), у одного наблюдалось массивное поступление крови по плевральным дренажам. Этим была обусловлена значительно более объемная гемотрансфузия эритроцитарной массы до начала ЗПТ у пациентов этой группы (605,30±35,90 мл/сут), чем у пациентов первой подгруппы (380,50±55,30 мл/сут) ($p<0,05$) (**табл. 2**). В группе IIA у 27% больных наблюдались геморрагические осложнения: желудочно-кишечные или носовые кровотечения, гемоперикард и клиника ДВС-синдрома. 40% пациентов IIB группы перенесли большую интраоперационную кровопотерю (до 20–25% от ОЦК), а у одного больного в раннем послеоперационном периоде развился гемоперикард. У 30% пациентов III группы были диагностированы желудочно-кишечные кровотечения. До начала ЗПТ у пациентов в группах была обнаружена достоверная разница ($p<0,05$) в уровне значений гемоглобина и гематокрита (**табл. 4**), что, однако, не повлияло на объем трансфузии в группах ($p<0,1$) в процессе проведения ЗПТ. Количество тромбоцитов у пациентов III группы до начала ЗПТ было достоверно больше, в сравнении с пациентами других групп (**табл. 4**).

В процессе исследования у всех больных отмечалось снижение активности внешнего и внутреннего путей свертывания, активности плазминогена и естественных антикоагулянтов, последнее было достоверно значимым у пациентов IIB группы (**табл. 5**). Среди больных этой группы было диагностировано снижение активности внутреннего пути свертывания: АЧТВ — 45,58±7,9сек. Уровень РФМК — 17,53±3,13мг%, а активность плазминогена снижена. Угнетение обоих путей свертывания у пациентов III группы было достоверно менее выраженным по сравнению с пациентами I и II групп. У пациентов III группы уровень фибриногена и плазминогена были значительно повышены, а активность протеина С снижена (**табл. 5**). Среди больных IA группы было диагностировано более значимое снижение активности внутреннего пути: АЧТВ — 78,23±6,38 сек. В этой же группе по сравнению с пациентами IB группы было выявлено не достоверное снижение активности внешнего пути свертывания: ПТВ составляло 35,30±1,13 сек., ТВ — 34,79±1,94 сек. Однако, между подгруппами была отмечена достоверная разница ($p<0,05$) в уровне значений АТ-III.

Выбор метода антикоагуляции перед началом проведения ЗПТ основывался на выраженности гипокоагуляции, глубине дефицита АТ-III и плазминогена, уровне тромбоцитопении и гемодилюции, содержании фибриногена в плазме.

Для обеспечения сосудистого доступа при проведении ЗПТ производили пункцию и катетеризацию центральных вен по методике Сельдингера двухпросветными 8–11,5 Fr (Fresenius, Германия)

Таблица 1

Характеристика больных

Показатели / Подгруппы	I		II		III	p
	IA	IB	IIA	IIB		
Пол, м/ж	5/5	10/0	8/7	6/4	6/4	>0,05
Масса, кг	77,2±9,6	87,9±11,3	79,5±5,6	75,6±6,8	74,1±6,9	>0,05
Возраст, лет	47,7±7,2	51,2±6,3	51,3±3,7	49,2±8,04	52,7±4,9	>0,05

Таблица 2

Структура синдрома ПОН

Осложнения	IA группа	IB группа	IIA группа	IIB группа	III группа
Острая сердечная недостаточность	100%	100%	100%	100%	100%
Дыхательная недостаточность	100%	100%	100%	100%	100%
Острая почечная недостаточность	100%	100%	100%	100%	100%
Острая печеночная недостаточность	42%	50%	46%	50%	40%
Мозговая кома	30%	43%	13%	20%	20%
Коагулопатии	100%	100%	100%	100%	100%
Кровотечения до начала ЗПТ	57%	80%*	27%*	40%	30%
APACHE II, баллы	31,7±3,4	32,6±4,3	30,2±3,3	29,4±2,3	29,5±4,2

*Примечание: *p<0,05*

Таблица 3

Показатели гемодинамики до начала ЗПТ

Показатели	IA группа	IB группа	IIA группа	IIB группа	III группа
АДср, мм рт.ст.	71±4,2	76,2±5,3	73,2±4,8	76,4±5,5	78,3±3,5
ЧСС в 1 мин	104,7±12,8	108,9±10,2	106,7±12,8	102,9±9,2	92,2±10,1
ЦВД, мм рт.ст.	14,7±3,3	15,2±2,6	16,7±3,3	15,2±2,6	13,8±3,7
ФВлж, %	38,8±5,4	39,6±3,7	37,8±3,4*	42,6±5,2	43,3±3,2*
Адреналин, мкг/кг/мин	0,13±0,05	0,16±0,06*	0,12±0,05	0,09±0,06	0,08±0,03*
Допамин, мкг/кг/мин	6,5±0,52*	4,33±0,81	5,5±0,22	4,23±0,61	3,5±0,51*
Добутрекс, мкг/кг/мин	12,2±2,7*	13,7±4,3	10,7±3,5	10,9±2,5	8,1±3,9*

*Примечание: *p<0,05*

Таблица 4

Лабораторные данные до начала ЗПТ

Показатели	IA группа	IB группа	IIA группа	IIB группа	III группа
Общ. билирубин, мкмоль/мл	104,18±16,09	107,82±11,89	94,09±9,6	110±5,87	51,9±9,32
Коньюгированная фракция, мкмоль/мл	68,72±5,7	74,9±4,8	55,29±7,1	73,38±5,85	19,67±9,85 **
АСТ, ЕД/л	118±24,94	116,33±17,13	77,5±2,64	161,16±79,39	76,25±17,11
АЛТ, ЕД/л	1018±336,61	4114±313,17	95,75±6,4	164,5±5,9	91±7,2
Креатинин, мкмоль/л	236,69±42,37	337,27±60,28	317,47±54,43	328,4±97,92	413,3±78,84
Мочевина, ммоль/л	24,86±4,12	28,58±3,61	42,7±3,02	57,6±5,24	29,2±4,92
Калий, ммоль/л	5,09±0,5	5,6±0,53	5,49±0,28	5,3±0,32	5,4±0,31
Натрий, ммоль/л	138,4±10,2	140,25±11,5	138,5±2,06	141±2,3	141±3,6
Гемоглобин, г/л	82,3±9,97	90,6±6,95	80,47±5,77	104,13±9,09*	90,84±5,72 **
Гематокрит, %	0,24±0,05	0,26±0,03	0,23±0,03	0,30±0,02*	0,27±0,03*
Тромбоциты, *109/л	70,33±17,05	66,73±21,05	128,85±17,1	86,45±21,3***	138,33±9,7
Функциональная способность тромбоцитов, %	33,53±7,41	27,19±9,99	28,95±5,17	17,55±7,4***	35,8±6,28

*Примечание: *p<0,05 в сравнении с IIA группой. ** p<0,05 в сравнении со IIB группой; *** p<0,05 в сравнении с III группами.*

Таблица 5

Показатели коагулограммы до процедуры ЗПТ

Показатели	IA группа	IB группа	IIA группа	IIB группа	III группа
АЧТВ, сек	78,23±6,38	55,67±2,96	49,72±10,92	45,58±7,9	34,96±6,95**
Протром биновое время,сек	35,30±1,13	34,28±2,80	34,75±7,96	26±2,15	24,5±4,24**
Тромбиновое время,сек	34,79±1,94	22,31±1,79	23,22±3,85	17,9±3,84	16,9±2,27**
Протром биновый индекс по квику, %	48,15±2,23	49,59±1,86	50,3±8,26	69,4±1,37	67,9±4,83
Фибриноген, мг%	336,61±21,3	407,53±17,96	414,7±69,48	322,58±89,5	630,23±88,5**
МНО	2,41±0,28	2,2±0,61	2,2±0,83	1,5±0,83	1,75±0,14
АТ-III,%	62,35±6,62	77,84±6,80*	91,97±3,65	54,69±10,58**	92,14±10,68
Протеин С,%	50,94±2,39	56,71±2,01	57,97±4,77	29,57±1,62**	48,8±7,22
Плазминоген,%	62,84±2,54	48,88±1,95**	62,58±5,88	67,23±2,84	90,57±4,27
РКФМ, мг%	13,88±1,21	12,45±1,07	16,33±3,3	17,53±3,13	17,75±4,45

*Примечание: *P<0,05 в сравнении с IA группой; ** p<0,05 в сравнении со всеми группами.*

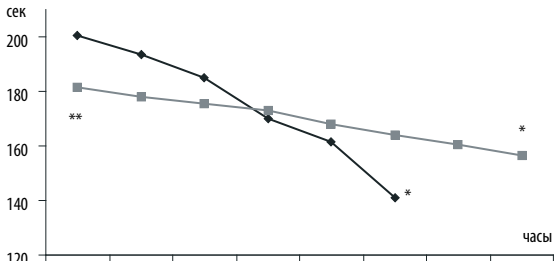
или трехпросветными 12 Fr (Arrow, США) катетерами. Бикарбонатный гемодиализ (ГД) или гемодиафильтрацию (ГДФ) осуществляли, используя аппарат «искусственная почка» Fresenius-4008B и диализаторы F-8, -7, -6 или HF-60S, -80S (Fresenius, Германия). Скорость кровяного насоса не превышала 180–200 мл/мин и потока диализата 300–500 мл/мин.

Перед началом работы у пациентов IA группы ЭКК промывали 2 л физиологического раствора без применения гепарина, а затем начинали процедуры. В IB группе перед началом ЗПТ ЭКК, включая катетеры дважды модифицировали поверхностноактивным веществом с гепарином по методике, разработанной в 1995 г. в НЦССХ им. А. Н. Бакулева профессорами Новиковой С. П. и Добровой Н. Б. По АСТ — тесту с гепариназой на 30, 150, 210 мин проведения ЗПТ оценивали степень десорбции гепарина с поверхности контура, а на 90 мин — изучали степень агрегации тромбоцитов на диализаторе. Во IIA группе пациентов антикоагуляцию осуществляли с помощью постоянной инфузии гепарина в ЭКК из расчета не более 3–5ед/кг/час. Во IIB — фраксипарин (Sanofi-Sintelabo, Франция) вводили в контур болюсно в начале процедуры из расчета 0,05мл/10кг веса. В III группе пациентов, при осуществлении РАГ, гепарин подавался в контур, а протамин сульфат — через инфузомат в магистраль на выходе из ЭКК. Процедуру начинали с введения гепарина и протамина сульфата в соотношении 1:1. В ходе процедуры определяли АСТ в ЭКК и у больного.

В процессе исследования у всех больных изучали данные коагулограммы. Активность анти Ха-фактора определяли по степени гидролиза хромогенного субстрата тестом IL Heparin, производства США. По наличию геморрагических осложнений и частоте тромбозов контура судили о безопасности терапии. Рассчитывая клиренс мочевины через каждый час процедуры, судили об эффективности работы фильтра. Все полученные в процессе обследования цифровые данные были подвергнуты статистической обработке использованием программы Microsoft Excel 7.0.

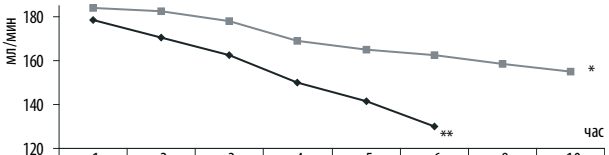
РЕЗУЛЬТАТЫ

IA группе было проведено 16 процедур интермиттирующего ГД без применения системной антикоагуляции, что было обусловлено выраженной коагулопатией и тромбоцитопенией, ДВС-синдромом, клиникой желудочно- кишечного кровотечения в 43% случаях и глубоким дефицитом АТ-III. Средняя продолжительность процедур ЗПТ у пациентов этой группы составила 6,75±0,68 ч. Значения АСТ перед началом процедуры составляли 200,75±31,34 с, что было достоверно выше, чем у пациентов IB группы (*p=0,0869*). В этой же группе отмечался также фибринолиз и дефицит естественных антикоагулянтов (**табл. 5**). В ходе проведения процедур было диагностировано достоверно значимое укорочение показателей АСТ и к концу процедур оно составляло 140,96±45,62с (**рис. 2**). Следует отметить, что, эффективность работы фильтра оставалась высокой и к окончанию ЗПТ снижалась на 20% (**рис. 3**). Объем ультрафильтрации за процедуру в среднем составлял 2127±1073,4 мл (от 1000 до 3800 мл). АЧТВ, МНО, ТВ к окончанию ЗПТ сокращались (**табл. 6**). Кроме того, было выявлено снижение количества тромбоцитов на 21%, повышения уровня фибриногена и достоверное увеличение активности естественных антикоагулянтов, что можно связать с трансфузией СЗП в



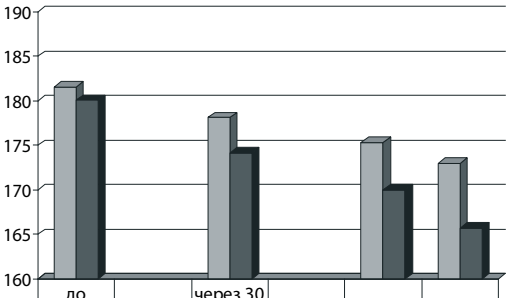
	исход	0.5	1.5	2.5	4	6	8	10
IA группа	200.75	193.65	184.91	170.16	161.72	140.96		
IB группа	181.52	178.12	175.32	172.98	168.02	163.92	160.58	156.75

Рис. 2. Динамика активированного времени свертывания в течение проведения ЗПТ. *p<0,05 в сравнении с исходной АСТ в этой группы, **p>0,05 в сравнении исходной АСТ IA группы.



	1	2	3	4	5	6	8	10
IA группа	178.34	170.62	162.29	150.14	141.35	130.12		
IB группа	184.14	182.72	178.25	169.13	165.12	162.27	158.68	155.09

Рис. 3. Эффективность работы фильтра по клиренсу мочевины, *p<0,05 и **p<0,05 в сравнении с исходными значениями в группах, **p<0.05 в сравнении с *p.



	до начала		через 30 мин		90 мин	150 мин
АСТ	181.52		178.12		175.32	172.98
АСТ с гепариназой	180.06		174.16		170.05	165.67

Рис.4. Контроль десорбции гепарина с поверхности МЭКК.

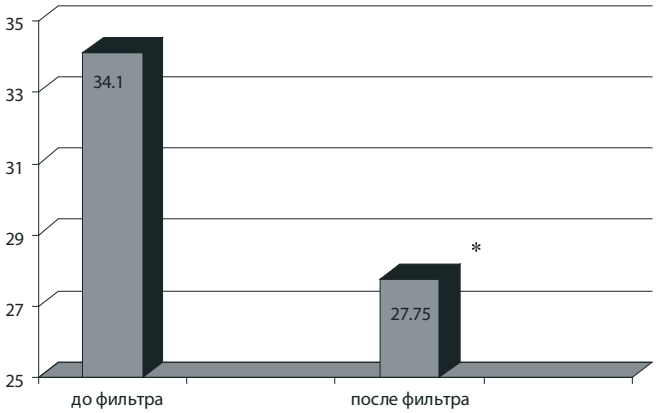


Рис.5. Функциональная активность тромбоцитов в пробе крови взятой до и после диализатора. *p>0,05 в сравнении со значением до фильтра.

среднем объеме 586,7±84,7 мл. Состояние системы гемостаза в процессе ЗПТ не приводило к тромбозу и преждевременному прекращению работы ЭКК, а также не было необходимости использования антикоагулянтов во время процедуры.

Выбор метода антикоагуляции у IB группы больных был обусловлен выраженностью тромбоцитопении, коагулопатии и анемии, менее выраженным дефицитом АТ-III в сравнении с пациентами IA группы; наличием в анамнезе желудочно-кишечного кровотечения; наличием активного кровотечения до и во время процедуры ЗПТ.

Продолжительность ЗПТ у больных этой группы составляла 10,98±0,72ч. По данным коагулограммы времена свертывания до начала лечения были короче по сравнению с исходными показателями у пациентов IA группы. Обращает на себя внимание выраженный дефицит плазминогена. В целом, оценивая данные коагулограммы следует отметить наличие гипокоагуляции с дефицитом естественных антикоагулянтов (**табл. 5**).

Исходное АСТ у пациентов IB группы составило 181,52±24,01сек., которое к концу терапии составило 156,75±12,35сек (*p=0,0232*) (**рис. 2**). Разница в показателях АСТ и АСТ с гепариназой составляла 1–6% (**рис. 4**). На 90 минуте процедуры степень агрегации тромбоцитов в пробе взятой до фильтра была 34,1±3,12%, а после фильтра — 27,75±4,0% (*p=0,392*) (**рис. 5**). В ходе ЗПТ ультрафильтрация, объем которой по группе составил 2122,2±1273,5мл, достоверно не отличалась от величины объема фильтрации у пациентов IA группы (*p=0,508*). К концу ЗПТ у больных IB группы достоверно сокращались времена свертывания крови, увеличивался уровень фибриногена, что можно связать с большим объемом перелитой СЗП — 1162±268,87 мл. Следует отметить, что количество тромбоцитов, уровень естественных антикоагулянтов и плазминогена практически не изменился, достоверно возрос уровень РФМК (**табл. 7**). Эффективность работы фильтра снижалась к окончанию лечения на 17% (**рис. 3**). Наш опыт проведения ЗПТ с использованием МЭКК показал, что, возможно, проводить процедуры без дополнительного введения антикоагулянтов. В 4 случаях по окончании ЗПТ мы обнаруживали частичный тромбоз венозной ловушки, что, однако, не приводило к преждевременному завершению лечения.

В IIA группу вошли 15 больных, которым было проведено 38 процедур ГД и 7 — ГДФ с применением системной АК, используя гепарин в дозе

Таблица 6

Показатели коагулограммы в динамике у пациентов IA группы

Показатели	До ЗПТ	После ЗПТ	p
Тромбоциты, $\times 10^9$/л	70,33±17,05	55,33±7,53	0,384
АЧТВ, сек	78,23±6,38	45,17±1,48	0,171
Протром биновое время, сек	35,30±1,13	25,61±1,08*	0,051
Тромбиновое время, сек	34,79±1,94	23±1,56*	0,028
Протромбиновый индекс по квику, %	48,15±2,23	66,38±1,40	0,066
Фибриноген, мг%	336,61±21,32	419,23±26,76*	0,044
МНО	2,41±0,28	1,57±0,24*	0,043
АТ-III, %	62,35±6,62	75,07±5,31*	0,038
Протеин С, %	50,94±2,39	60,14±2,61*	0,041
Плазминоген, %	62,84±2,54	61,15±1,97	0,727
РФМК, мг%	13,88±1,21	15,81±1,09	0,437

*Примечание: *p<0,05*

Таблица 7

Показатели коагулограммы в динамике у пациентов IB группы

Показатели	До ЗПТ	После ЗПТ	p
Тромбоциты, $\times 10^9$/л	66,73±21,05	64,6±3,24	0,936
АЧТВ, сек	55,67±2,96	36,66±1,62	0,058
Протромбиновое время, сек	34,28±2,80	26,42±2,30	0,202
Тромбиновое время, сек	22,31±1,79	14,42±1,71	0,098
Протромбиновый индекс по квику, %	49,59±1,86	66,07±1,98	0,369
Фибриноген, мг%	407,53±17,96	470,08±25,11	0,066
МНО	2,2±0,61	1,74±0,17	0,169
АТ-III, %	77,84±6,80*	78,05±3,90	0,970
Протеин С, %	56,71±2,01	58,62±3,12	0,832
Плазминоген, %	48,88±1,95*	49,94±1,42	0,823
РФМК, мг%	12,45±1,07	16,55±1,34	0,017

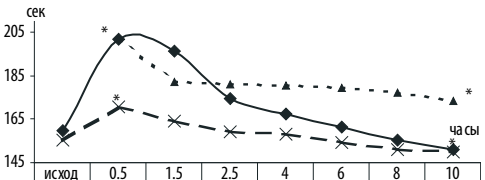
Примечание: p<0,1

Таблица 8

Показатели коагулограммы в динамике у пациентов IIA группы

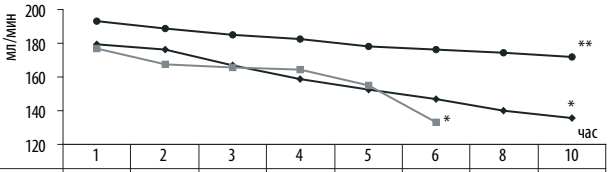
Показатели	До ЗПТ	После ЗПТ	p
Тромбоциты, (10^9/л)	128,85±17,1	110,86±21,4	0,205
АЧТВ, сек	49,72±10,92	52,33±8,54	0,664
ПВ, сек	34,75±7,96	36,38±1,33	0,259
ТВ, сек	23,22±3,85	26,48±2,94	0,724
ПТИ, %	50,3±8,26	54,2±6,24	0,365
Фибриноген, мг%	414,7±69,48	426,73±47,12	0,348
МНО	2,2±0,83	2,3±0,65	0,143
Активность АТ-III, %	91,97±3,65	90,85±5,34	0,890
Активность Протеина С, %	57,97±4,77	49,6±4,54	0,333
Активность Плазминогена, %	62,58±5,88	67±10,04	0,527
РФМК, мг%	16,33±3,3	18,36±3,98	0,446

3–5ед/кг/час, что было обусловлено выраженной коагулопатией и тромбоцитопенией. Средняя продолжительность терапии — 10,6±0,52 ч., поскольку исходное состояние системы кровообращения не позволяло более быстро корригировать водно-электролитные и метаболические нарушения.



	исход	0.5	1.5	2.5	4	6	8	10
IIA группа	159.96	201.66	196.5	174.75	167.22	161.27	155.35	151.2
III группа АСТ контура		202.37	182.37	181.16	180.31	179.54	177.02	173.37
III группа АСТ больного	155.11	170.77	164.22	159.01	157.92	154.09	151.2	149.7

Рис.6. Динамика активированного времени свертывания при проведении ЗПТ. *p<0,05



	1	2	3	4	5	6	8	10
IIA группа	179.52	176.22	166.89	158.68	152.64	146.72	140.13	135.42
IIB группа	176.91	167.49	165.68	164.52	154.82	133.33		
III группа	192.92	188.66	185.04	182.32	178.1	176	174.65	172.06

Рис. 7. Эффективность работы фильтра по клиренсу мочевины. * p<0,05 по отношению к исходным значениям. **p<0,05 по отношению к *p.

Показатели АСТ до начала процедуры соответствовали — 159,96±14,85 сек, что было достоверно (*p=0,009*) выше в сравнении с аналогичными показателями больных IIB группы. В ходе проведения ЗПТ мы стремились укорочения АСТ (**рис. 6**) за счет уменьшения расчетной дозы гепарина до 3 ед/кг/час. Эффективность работы фильтра оставалась высокой, снижаясь к окончанию процедур на 22% (**рис. 7**). Объем ультрафильтрации за процедуру в среднем составлял 2565±140,5 мл, а объем обмена при ГДФ 52650±1250,5мл (от 48 до 60л). Необходимо отметить, что во время ЗПТ проводилась трансфузия 421,4±87,8 мл свежезамороженной плазмы и эритроцитарной массы — 383,3±90,9 мл. Тем не менее, к окончанию ЗПТ отмечалось удлинение времен свертывания, повышение содержания фибриногена на 2,8% и активности плазминогена на 6,5% (возможно в ответ на трансфузию донорской плазмы). К концу терапии мы отмечали снижение содержания естественных антикоагулянтов на 2–15% (**табл. 8**) и количества тромбоцитов на 13,9%, подъем РФМК на 11%. Состояние системы гемостаза в процессе ЗПТ не приводило к тромбозу и преждевременному прекращению работы ЭКК и геморрагиям, кроме того, не было необходимости в повышении доз антикоагулянтов более 5 ед/кг/час во время процедуры.

Выбор метода антикоагуляции у 10 больных IIB группы был обусловлен значимостью тромбоцитопении и низкой активностью естественных антикоагулянтов, достоверно меньшим удлинением времен свертывания и анемией в сравнении с пациентами других групп. Учитывая наличие у 40% больных этой группы геморрагических осложнений, мы предпочли однократное болюсное введение антикоагулянта в дозе 0,05мл/10кг веса. Было проведено 6 процедур ГДФ и 10 — ГД с применением фраксипарина.

У пациентов данной группы ЗПТ позволяла скорригировать нарушения водно — электролитного и метаболического балансов за достоверно более короткое время — 6,94±0,83 ч. По данным показателей коагулограммы времена свертывания были короче по сравнению с исходными показателями у пациентов IIA группы. Кроме того, обращало на себя внимание выраженный дефицит протеина С и АТ-III (**табл. 5**). Исходное значение активности антиХа — фактора составляло 0,61±0,17 антиХа МЕ/мл. Пиковое значение антиХа — фактора приходились на 1–2 час процедуры (рис.8) с постепенным укорочением к концу процедур до — 0,305 анти Ха МЕ/мл. Спустя 150 мин от начала терапии имелась тенденция к укорочению ПВ на 12% и АЧТВ на 2%, а увеличение уровня фибриногена и активности АТ-III на 13% и 15%. Активность плазминогена изменялась незначительно, отмечалось снижение активности протеина С. К концу терапии у больных этой группы продолжали сокращаться времена свертывания крови, увеличивалось содержание фибриногена и естественных антикоагулянтов (что можно связать с объемом перелитой СЗП — 475±63,4 мл) при расходовании плазминогена (табл.9), число тромбоцитов снизилось на 24,7%. Объем гемотрансфузии в группе составил — 375±93,8 мл. В ходе ЗПТ объем ультрафильтрации соответствовал 2860,8±173,3мл, а объем обмена при ГДФ в группе — 48560±1050,0 мл. Эффективность работы фильтра в процессе проведения ЗПТ оставалась высокой, снижаясь лишь к 6 часу процедуры на 24,6% (**рис. 7**). В 4 случаях в ходе проведения ГДФ при подозрении на раннее тромбирование ЭКК и опасности преждевременного прекращения процедуры возникала необходимость в дополнительном введении антикоагулянта в дозе 0,025 мл/10кг веса к 4 часу процедуры. В одном случае мы наблюдали массивное кровотечение после болюсного введения фраксипарина, вследствие, видимо, неоправданно выбранного метода антикоагуляции у больного с выраженной тромбоцитопенией (37×10^9/л) и угнетением активаторов внешнего пути свертывания.

Таблица 9

Показатели коагулограммы в динамике у пациентов IIB группы

Показатели	До ЗПТ	Через 150 мин	После ЗПТ	p
Тромбоциты, (10^9/л)	86,45±21,3		65,09±17,83	0,145
АЧТВ, сек	45,58±7,9	44,62±10,76	42,87±12,7	0,607
ПВ, сек	26±2,15	22,82±3,57	20,7±6,92	0,698
ТВ, сек	17,9±3,84	17,44±1,97	14,8±1,07	0,254
ПТИ, %	69,4±1,37	76,4±2,53	84,1±2,45	0,369
Фибриноген, мг%	322,58±89,51	370,8±23,8	433±41,59	0,258
МНО	1,5±0,83	1,4±0,45	1,3±0,13	0,169
Активность АТ-III, %	54,69±10,58	64,6±5,2	65,57±5,53	0,931
Активность Протеина С, %	29,57±1,62	27,25±2,26	36±2,02	0,330
Активность Плазминогена, %	67,23±12,84	72,77±20,23	67,75±12,87	0,687
РФМК, мг%	17,53±3,13	17,96±2,12	18,1±2,7	0,790

Примечание: p – достоверность значений до и после ЗПТ.

Таблица 10

Параметры гемодинамики при проведении ЗПТ у больных III группы

Параметры	Исход	1 час	4 час	8 час	10 час
АД ср (мм рт.ст)	78,3±3,5	77,5±5,5	78,5±3,4	82±2,7	84,1±5,02
ЧСС (уд/мин)	98,2±10,1	100,5±11,2	98,9±9,8	94,5±10,2	92,3±10,5
ЦВД (мм рт.ст)	13,8±3,7*	13,03±5,5	12±3,9	9,8±2,9	8,02±4,3*
Длп (мм рт.ст)	15,7±4,4	14,6±3,2	12,5±3,6	10,6±4,9	8,9±2,3

*Примечание: *p<0,05*

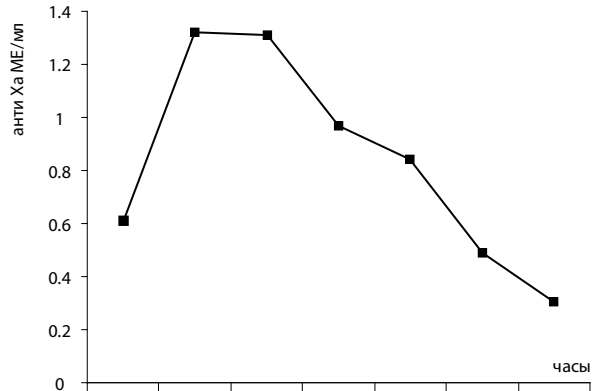
Таблица 11

Показатели коагулограммы в динамике у пациентов III группы

Показатели	До ЗПТ	После ЗПТ	p
Тромбоциты, (10^9/л)	138,33±9,7	104,75±5,8	0,325
АЧТВ, сек	34,96±6,95	35,1±4,62	0,987
ПВ, сек	24,5±4,24	22,23±7,1	0,590
ТВ, сек	16,94±2,27	14,45±9,48	0,669
ПТИ, %	67,9±4,83	77,4±3,92	0,605
Фибриноген, мг%	630,23±88,52	590,43±57,31	0,742
МНО	1,75±0,14	1,5±0,24	0,133
Активность АТ-III, %	92,14±10,68	96,25±3,77	0,827
Активность Протеина С, %	48,8±17,22	59,66±3,63	0,288
Активность Плазминогена, %	90,57±4,27	89,25±4,81	0,966
РФМК, мг%	17,75±4,45	22,26±6,17	0,265

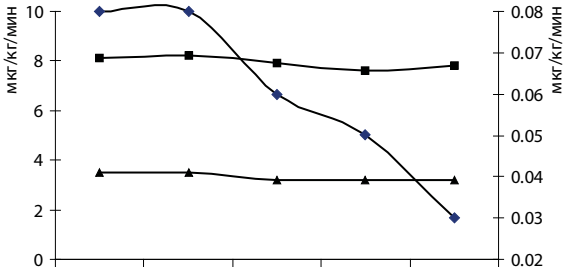
В третьей группе выбор метода антикоагуляции был продиктован более высокой активностью фибриногена и АТ-III, менее выраженной (в сравнении с другими группами) тромбоцитопенией и тромбоцитопатией, тромбинемией, фибринолизом и анемией (**табл. 5**). Кроме того, при выборе метода АК мы учитывали исходное более стабильное состояние системы кровообращения у пациентов этой группы. Было проведено 4 процедуры ГДФ и 12 — ГД с применением региональной антикоагуляции.

Продолжительность ЗПТ в группе составляла 10,42±0,76 ч. Времена свертывания до начала лечения были короче по сравнению с исходными у пациентов прочих групп. Количество тромбоцитов у пациентов III группы было выше, чем у пациентов других групп (**табл. 5**). Показатели АСТ (155,11±9,15 сек) до начала процедуры были выше в сравнении с таковыми у больных IIB группы (*p=0,02*). В ходе проведения терапии мы стремились поддерживать АСТ в ЭКК и в крови больного в пределах рекомендуемых в литературе [9] значений (**рис. 6**). Эффективность работы фильтра в этой группе снизилась к концу процедуры не бо-



	исход	1	2	3	4	5	6
анти Ха - фактор	0.61	1.32	1.31	0.97	0.84	0.49	0.305

Рис.8. Динамика активности анти Ха – фактора в течении проведения ЗПТ у пациентов IIB группы



	исход	1 час	4 час	8 час	10 час
добутрекс	8.1	8.2	7.9	7.6	7.8
допамин	3.5	3.5	3.2	3.2	3.2
адреналин	0.08	0.08	0.06	0.05	0.03

Рис. 9. Динамика инотропной поддержки при проведении ЗПТ у больных III группы. *p<0,05.

лее 10% (**рис. 7**). Объем ультрафильтрации в среднем составлял 2790±260,0 мл (от 1500 до 3750 мл), что позволяло достигнуть отрицательного баланса жидкости и приводило к достоверному снижению показателей ЦВД с 15,8±3,7 до 9,05±2,2 мм рт. ст. и Длп с 15,7±4,4 до 8,9±2,3 мм рт. ст., на фоне подъема АДср с 76,3±3,5 до 79,14±5,02 мм рт. ст. и снижения дозы симпатомиметиков (**табл. 10**, **рис. 9**). В 75% случаев к окончанию процедуры ЗПТ возникала необходимость в изменении соотношения гепарин/протамин сульфат в сторону увеличения дозы последнего (от 1/1 к 1/1,3–1/1,5) во всех случаях, приводя АСТ больного к исходным цифрам или к норме (150–180 сек). Несмотря на это, нами не были выявлены осложнения связанные с побочными эффектами протамин сульфата. В 12,5% случаях создавалась необходимость снижения дозы гепарина (от 1/1 к 0,5/1) из-за удлинения АСТ в ЭКК выше 200 сек. В других 12,5% случаев — в сторону снижения дозы протамин сульфата (от 1/1 к 1/0,5) из-за укорочения АСТ в крови больных ниже 140 сек. По окончании ЗПТ по данным коагулограммы отмечалось укорочение ПТВ на 9%, а также не достоверный подъем естественных антикоагулянтов и РФМК (на 20%) (**табл. 11**), снижение концентрации фибриногена на 6,3% и количества тромбоцитов на 24,2% к концу терапии. Необходимо отметить, что трансфузионная терапия свежезамороженной плазмой в объеме — 315±66,59 мл и эритроцитарной массой — 525±53,8 мл достоверно не отличалась от таковых у пациентов других групп. Наш опыт проведения ЗПТ с использованием РАГ с последующей нейтрализацией протамином показал возможность осуществления антикоагуляции без каких-либо осложнений и без негативного влияния на гемодинамику больных после операций на сердце и сосудах. Во всех группах причиной 40–50% летальности больных явились прогрессирование ПОН и в первую очередь сердечно-сосудистой недостаточности.

ОБСУЖДЕНИЕ

По мнению *Mehta RL* (1996) и ряда других авторов [37, 39] для больных, перенесших кардиохирургические операции с использованием длительного искусственного кровообращения, с выраженной коагулопатией, тромбоцитопенией, печеночной недостаточностью и пр. достаточно часто показана методика без системной антикоагуляции. Одним из последних интереснейших направлений в изучении проблемы снижения возможных отрицательных последствий применения системной антикоагуляции в процессе проведения ЗПТ является обработка экстракорпорального контура и фильтра материалами, позволяющими проводить лечение без использования системной антикоагуляции. По мнению *Sieffert E et all* [35] проведение ЗПТ с использованием систем, обработанных гепарином, дают возможность не применять системно антикоагулянты во время процедуры с сохранением эффективной работы фильтра. В первых публикациях по этому вопросу показана возможность работы ЭКК более 40 часов без добавления антикоагулянтов [35]. В более поздних статьях отмечается, что время работы этих контуров не превышает 24 часов [6]. По данным ряда зарубежных авторов [6] количество гепарина, которое десорбируется из контура в циркуляцию, крайне незначительно (<1%). Кроме того, по мнению исследователей частота возникновения геморрагических осложнений значительно ниже в сравнении со стандартной антикоагуляцией гепарином и практически не отличается от частоты возникновения кровотечений при проведении процедуры без антикоагулянтов. Вместе с тем, было отмечено увеличение клирен-

сов веществ и удлинение времени «жизни» фильтра в том случае, когда эти параметры сравнивали со стандартными режимами антикоагуляции [18]. Это мнение послужило одним из оснований для проведения настоящего исследования и определения возможности использования ЗПТ без применения системной антикоагуляции у пациентов с крайне высоким риском развития геморрагических осложнений. Некоторые авторы [36, 37] предлагают использовать безантикоагулянтную методику у больных с количеством тромбоцитов менее 80×10^9/л и удлинением протромбинового времени более 18 сек. По мнению *Moriniere et al.* [31] эта методика требует через каждые 30 мин периодической промывки ЭКК 150–200 мл физиологического раствора, с последующей ультрафильтрацией излишнего объема кристаллоидов. Кроме того, эти авторы считают, что значения АСТ до диализа должны превышать 150 сек, при необходимой скорости кровотока 300 мл/мин и наличии адекватного сосудистого доступа. В ходе работы контроль за состоянием гемостаза нами осуществлялся на основании анализа значений АСТ, которое перед началом процедур у всех больных было значительно удлинено (>180сек), что позволяло нам провести процедуры ЗПТ без профилактической промывки ЭКК. Активирующее действие поверхности ЭКК на систему гемостаза и трансфузия свежезамороженной плазмы в ходе проведения процедур приводили к достоверно значимому и более выраженному укорочению АСТ (на 30%), у больных IA группы, в сравнении с пациентами IB группы. Тромборезистентная поверхность МЭКК поддерживала АСТ в пределах рекомендуемых в литературе [31] значений (160–180сек) снижаясь у пациентов второй подгруппы к концу терапии всего на 15%. Десорбция минимального количества гепарина (от 1 до 6%) с поверхности МЭКК в сосудистое русло, не приводило к существенному удлинению АСТ в течение процедуры. Атромбогенная поверхность МЭКК позволяла проводить процедуры достоверно более длительное время у пациентов с исходно нестабильной гемодинамикой. У пациентов IA группы эффективность работы диализатора была достоверно ниже, чем у пациентов IB группы. Это можно объяснить активирующим влиянием компонентов донорской плазмы при атромборезистентности материалов ЭКК на систему свертывания пациентов IA группы. Нельзя исключить и влияние увеличения вязкости плазмы, за счет гемоконцентрации вызванной ультрафильтрацией. Возможно, в связи с переливаемой донорской плазмой АТ-III у пациентов второй подгруппы вызывал антикоагулянтную активность иммобилизованного гепарина в МЭКК, тем самым, повышая атромбогенные свойства контура и сохраняя высокой эффективность фильтра в течение всей процедуры. Сохраняющийся дефицит АТ-III, по-видимому, связан с его потреблением в процессе терапии для связывания с иммобилизованным гепарином, что, тем не менее, не приводило к удлинению АСТ и, следовательно, не повышало риска развития кровотечения. По-видимому, за счет тромборезистентной поверхности диализатора у пациентов этой группы не было обнаружено активации агрегации тромбоцитов на фильтре. У пациентов IB группы к окончанию терапии имелась аналогичная тенденция в показателях коагулограммы. Времена свертывания сокращались, активность естественных антикоагулянтов и количество фибриногена повышались, сохранялись признаки фибринолиза при дефиците плазминогена по — видимому, за счет трансфузии донорской плазмы и влияния неэндотелизированной поверхности ЭКК на активацию гемостаза. Количество тромбоцитов у пациентов IB группы к концу терапии снижалось всего на 3%, что видимо можно объяснить атромбогенностью МЭКК. По причине дефицита естественных антикоагулянтов и плазминогена риск тромбоза ЭКК в отсутствии системной антикоагуляции становится вполне реальным у исследуемых нами больных. По мнению ряда авторов [11, 12] риск тромбоза ЭКК при безантикоагулянтной методике, равен 0–20%, а незначительный тромбоз хотя и не влияет кардинально на эффективность диализа, но отражается на состоянии гемостаза в целом. В своих публикациях *D. Ward u R. Mehta* [41] указывают на то, что тромбирование контура при безантикоагулянтной методике имело место в 9% случаев, в других работах [34] этот процент был достоверно ниже и составлял 2–5%. По данным других авторов [34], у 7% больных потребовался перевод на иной метод антикоагуляции из-за признаков частичного тромбоза, а у 2% — тромбирование ЭКК приводило к прекращению процедуры, но ни в одном случае не отмечалось геморрагических осложнений [40]. По результатам проведенной нами работы не было отмечено ни одного случая кровотечения или преждевременного прекращения процедуры из-за тромбоза ЭКК, не возникало необходимости в переводе больных на другой метод антикоагуляции.

У пациентов IB группы при проведении ЗПТ происходило тромбирование венозной ловушки, по данным коагулограмм выявлены в 2 случаях тромбинемия и гиперфибриногенемия, а в 2 других — активация внешнего пути свертывания и повышение агрегационной способности тромбоцитов при высоком уровне фибриногена. Думается, что в подобных случаях есть необходимость в двухкратной обработке контура или же не отказываться полностью от использования системной антикоагуляции, другое дело, что доза гепарина может быть снижена минимум вдвое от рекомендуемых при проведении ЗПТ.

В 1998 *Philippe Moriniere с соавторами* [31] предложили различные протоколы использования гепарина, как антикоагулянта, с коротким периодом «полужизни», без выраженного кумулирующего эффекта, возможностью быстрой нейтрализации в случае возникновения кровотечения или необходимости проведения экстренных инвазивных процедур. Однако, применение гепарина на практике порой ограниченно вследствие длительного периода полувыведения у уремических больных, плохой элиминации из организма, глубокого дефицита АТ-III у критически тяжелых пациентов и нередко возникающей ГИТ [32, 7]. Поэтому, в последнее время внимание многих исследователей обращено на применение НМГ. Несмотря на то, что длительность периода полувыведения, трудность контроля за эффективностью вводимой дозы и отсутствие специфического антидота делают вопрос использования НМГ до сих пор полностью не решенным, интерес к ним у исследователей не ослабевает до сих пор [21, 33]. По мнению ряда зарубежных коллег [3, 10] альтернативой системной антикоагуляции и безантикоагулянтной методике [9, 30] является применение РАГ. Однако, протамин сульфат обладает рядом неблагоприятных побочных эффектов, что вместе с отсутствием простого стандартного протокола ограничивает его применение у крайне тяжелых больных.

По мнению ряда авторов [31, 37] у больных с коагулопатиями и тем более после операций на сердце и сосудах использование даже совсем малых доз этого антикоагулянта (5ед/кг/час) может привести к тяжелым геморрагическим осложнениям. Исходное АСТ больных IIA, гемодилюция, значимая активность АТ-III, постоянная инфузия гепарина в столь минимальной дозе в ходе терапии позволили провести процедуры не превышая значения АСТ более 160–200 сек; сохраняя высокоэффективной работу фильтра более 10 часов. Следует отметить, что АСТ и эффективность работы фильтра к концу процедур у пациентов этой группы сокращались не более, чем у пациентов I группы. Однако, по мнению *A. Davenport* для интермиттирующего гемодиализа АСТ должно составлять 200–240 сек и не было доказано, что время работы фильтра определяется дозой гепарина или уровнем значения АСТ. В ряде исследований [27, 14, 24] отмечено, что низкие дозы гепарина могут быть использованы у больных с тромбоцитопенией без укорочения срока работы гемофильтра. Постепенное снижение эффективности работы фильтра в нашем исследовании можно связать со снижением дозы гепарина к концу терапии с 5 до 3 ед/кг/час (что объясняется желанием привести АСТ к исходным значениям), а также с трансфузией донорской плазмы, гемоконцентрацией на фильтре в результате ультрафильтрации, не ламинарного потока крови в диализаторе и активирующим влиянием тромбогенной поверхности ЭКК. К концу терапии не отмечалось достоверно значимого удлинения времен свертывания, а подъем уровня фибриногена и активности плазминогена происходил за счет трансфузии донорской плазмы. По-видимому, по этой же причине мы не нашли значимого потребления естественных антикоагулянтов. Снижение количества тромбоцитов по окончании процедур всего на 14% можно объяснить достоверно более низким гематокритом и меньшей активацией тромбоцитов. Использование гепарина при проведении ЗПТ связывают со значительным риском геморрагических осложнений без достоверного продления времени работы ЭКК. *Favre H с соавторами* [20] в своем исследовании отмечали до 30% случаев геморрагических осложнений. В большинстве публикаций сообщают о частоте кровотечений равной 25%, причем в 3,5-10% случаев смерть больных была прямо связана с проблемой АК при ЗПТ [15, 20]. В результате проведенного нами исследования не требовалось изменения дозы (3–5 ед/кг/час) антикоагулянта и данная доза гепарина не явилась причиной каких-либо осложнений.

В связи с опасностью развития геморрагических осложнений, вследствие длительного периода полураспада НМГ и их кумулятивной способности, мы посчитали целесообразным болюсное введение препарата до диализатора для обеспечения адекватной и эффективной антикоагуляции. Выбранная доза НМГ позволила нам провести

процедуры ЗПТ в течение всего времени высокоэффективно. В 4 случаях в ходе терапии при подозрении на раннее тромбирование ЭКК и воизбежании преждевременного прекращения его работы возникала необходимость в дополнительном введении антикоагулянта, что, по-видимому, объясняется удалением препарата через гемодиафильтр. На наш взгляд, высокий исходный уровень анти Ха-фактора (0,61±0,17 IU/ml), можно объяснить необходимостью осуществления антикоагулянтной терапии в послеоперационном периоде у пациентов, оперированных на сердце и сосудах до начала процедуры ЗПТ. Контроль за уровнем анти Ха — фактора в процессе исследования показал, что максимальные его значения приходятся на первые два часа терапии (1,32 IU/ml) после болюсного введения НМГ, с постепенным снижением активности к концу 6 часа до 0,3 IU/ml., что не противоречит последним данным зарубежных авторов [22, 13, 25, 26]. В результате проведенного нами исследования мы наблюдали массивное кровотечение лишь у одного пациента, по-видимому, из-за исходно выраженной тромбоцитопении (37×10^9/л) и угнетения активности внешнего пути свертывания. Поэтому, мы согласны с большинством авторов [4, 5, 21, 23, 19, 38], что антикоагуляция НМГ отнюдь не безопасная методика и требующая строгих показаний, а нередко имеющая целый ряд противопоказаний. Увеличение содержание фибриногена и естественных антикоагулянтов, которое мы наблюдали по окончании терапии, можно связать с объемом перелитой в ходе процедур СЗП. По нашим данным снижение числа тромбоцитов по окончании терапии у пациентов этой группы было больше, что может быть объяснено как активирующим влиянием ЭКК, так и высоким уровнем гематокрита на фильтре.

Для пациентов III группы методом выбора стала РАК, наличие анемии, тромбоцитопении и активации фибринолитической системы потребовали нейтрализации гепарина протамином сульфатом. В большинстве к окончанию ЗПТ возникала необходимость в увеличении соотношения протамина сульфата по отношению к гепарину из-за желания привести АСТ больного к исходным цифрам во-избежании возможных геморрагических осложнений. Несмотря на это, во всех случаях к моменту окончания терапии мы отмечали достоверное сокращение показателей АСТ, при этом его значения в пробе крови взятой до фильтра было достоверно удлинено в сравнении с АСТ в крови больного. Подобные результаты были получены в исследовании *Morabito S с соавторами* [30]. В этой работе критерием для отбора пациентов авторы считали укорочение АЧТВ<45сек и тромбоцитопению ≤120×10^9/л. В результате авторы показали, что АЧТВ в контуре было достоверно удлинено в сравнении со значениями у пациента. Проанализировав полученные нами данные, мы обнаружили, что эффективность работы фильтра оставалась высокой длительное время, снижаясь (на 10%) к концу терапии меньше, чем в других группах, хотя объемы гемотрансфузии и ультрафильтрации у пациентов этой группы не отличались от таковых в сравнении с больными прочих групп. Это объясняется исходно более выраженной гемодилюцией, тромбоцитопенией и относительно высокими дозами гепарина для этих больных. По окончании терапии у пациентов, у которых применяли РАГ, отмечалось увеличение активности естественных антикоагулянтов и сокращение ПВ, по-видимому, за счет инфузии донорской плазмы и протамина. Кроме того, были диагностированы снижение уровня фибриногена, количества тромбоцитов на 24,2% в течение терапии вследствии активации гемостаза в ответ на контакт крови с неэндотелизированной поверхностью ЭКК и под влиянием гепарина. *Morabito S с соавторами* [30] также обнаружили снижение на 24% числа тромбоцитов по окончании терапии. Чрезвычайно важно отметить, что в нашем исследовании титруемая доза протамина (10–15мг/кг/час) по отношению к гепарину (10 ед/кг/час) у больных с исходно скомпрометированной системой кровообращения не приводила к угнетению показателей гемодинамики. *Biancofiore G с соавторами* [10] также отмечают отсутствие влияния протамина на показатели системы кровообращения. Так же как и [9, 30], мы ни в одном случае не отметили побочных эффектов протамина (в частности анафилактоидных), не было ни одного случая тромбоза или геморрагических осложнений, вызванных применением этого метода антикоагуляции.

В заключение хочется сказать, что дифференцированный подход к выбору метода антикоагуляции при проведении ЗПТ у больных с высоким риском развития кровотечений позволяет избежать в ближайшем послеоперационном периоде тяжелых геморрагических осложнений, приводящих нередко к летальному исходу. Дальнейшие исследования позволят ответить на нерешенные в этой работе вопросы и обезопасить пациентов

от развития тяжелых тромбогеморрагических осложнений связанных с применением антикоагулянтов при ЗПТ.

ВЫВОДЫ

1. Проведение заместительной почечной терапии без использования системной антикоагуляции оправдано при длительности процедур менее 6 часов у больных с выраженной гипокоагуляцией, тромбоцитопенией и гемодилюцией, при наличии активного кровотечения или высокого риска геморрагических осложнений.
2. Применение модифицированного экстракорпорального контура позволяет эффективно проводить заместительную почечную терапию длительностью более 10 часов, при сохранении тромборезистентных свойств контура и отсутствии геморрагических осложнений у больных с выраженной гипокоагуляцией, тромбоцитопенией и гемодилюцией.
3. Использование системной антикоагуляции гепарином в минимальных дозах (3–5 ед/кг/час) является оправданным у больных с гемодилюцией, умеренной тромбоцитопенией, коагулопатией, достаточной активностью естественных антикоагулянтов и наличием риска геморрагий.
4. Антикоагуляция НМГ в дозе 0,05 мл/10 кг веса показана у больных с дефицитом естественных антикоагулянтов, умеренной тромбоцитопении, гипокоагуляции и длительности процедуры не более 6 часов, с обязательным мониторингом эффективности антикоагуляции с помощью исследования активности анти Ха-фактора.
5. Региональная антикоагуляция гепарином была эффективна у больных без значимой тромбоцитопении, с выраженной гемодилюцией и коагулопатией, фибриногенемией, при достаточном уровне АТ-III и высоком риске кровотечения, при необходимости проведения процедур свыше 8–10 часов.
6. При обоснованных показаниях применение региональной антикоагуляции гепарином является гемодинамически безопасным методом у больных после кардиохирургических операций и высоким риском развития геморрагических осложнений.
7. Дифференцированный подход к выбору метода антикоагуляции с учетом степени различий в спектре показателей свертывающей системы крови (удлинения АЧТВ, АСТ, МНО, фибриногенемией, дефицитом активности естественных антикоагулянтов и плазминогена, уровнем тромбоцитопении), длительности предполагаемой процедуры и клинического состояния больного обеспечивает эффективное и безопасное проведение заместительной почечной терапии у больных с высоким риском развития кровотечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лобачева Г. В. докт. Дисс. Факторы риска развития ранних осложнений и их коррекция у больных после операций на открытом сердце. Москва 2000 г.*
2. *Abbs IC, Cameron YS. Epidemiology of acute renal failure in the intensive car unit. In Ronco C, Bellomo R, eds. Crit. Car nephrology. Derdrecht, The Netherlands, Kluwer Academy Publish. 1998: 133-142.*
3. *Abramson S, Niels JL. Anticoagulation in CRRT. Curr Opin Nephrol Hypertens. 1999 8(6): 701-7.*
4. *Aggarwal A, Whitaker DA, Rimmer JM, Solomon RJ, Sobel BE, Schneider DJ. Attenuation of platelet reactivity by enoxaparin compared with unfractionated heparin in patients undergoing haemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 2004 19(6): 1559-63.*
5. *Anastassiades E, Lane D. A. A low molecular weight heparin (fragmin) for routine hemodialysis. Clin Nephrol 1989, 32: 290-296 (A).*
6. *Athirakul K, Conlon P, Schwab S. Cuffed central venous hemodialysis catheters and adequency of dialysis. JamSocNephrol 1998;7:1402.*
7. *Bastien O, French P, Paulus S, Filley S, Berruyer M, Dechavanne M. Antithrombin 111 deficiency during continuous veno-venous hemofiltration. Contrib Nephrol 1998;116: 154-158*
8. *Bellomo R, Teede H, Boyce N. Anticoagulant regimens in acute continuous hemodiafiltration: a comparative study. Intensiv Car Med 1993;19: 329-332.*
9. *Bellomo R. Treatment of ARF. The B. E. S. T. Kidney Results. The 8-th International Conference on CRRT. 2003: 335-338.*
10. *Biancofiore G, Esposito M, Bindi L, Stefanini A, Bisa M, Mosca F. Regional filter heparinization for CVVHF in liver transplant recipients. Minerva Anestesiol. 2003 69(6): 527-34; 534-8.*
11. *Casati S, Graziani G, Ponticelli C. Hemodialysis without anticoagulants in patient with high bleeding risk. Int J Artif Organs 1998; 5: 233-236*
12. *Casati S, Moia M, Graziani G. Hemodialysis without anticoagulants: efficiency and hemostatic aspects. Clin Neprol 1996; 21: 102-105*
13. *Chow SL, Zammit K, West K, Dannenhoffer M. Correletion*

of antifactor Xa concentrations with renal function in pation on enoxaparin. J Clin Pharmacol 2003, 43(6): 586-90.

14. Davenport A, Kirby SA, Hemofiltration / dialysis treatment in patients with acute renal failure. Car Crit Ill 1996;12: 54-58.
15. Davenport A, Will EJ, Davison AM. Comparison of the use of standard heparin and prostacyclin anticoagulation in spontaneous circuits in patients with combined acute renal and hepatic failure. Nephron 1994; 66: 431-437.
16. Davenport A, Will EJ, Davison AM. The effect of prostacyclin on intracranial pressure in patients with acute hepatic and renal failure. Clin Nephrol 1991;25:151-157
17. Davenport A. The coagulation system in the critically ill patient with acute renal failure and the effect of an extracorporeal circuit. Am JkidDis 1998 in press.
18. Ellis A, Wendon J. Circulatory, respiratory, cerebral and renal derangements in acute liver failure: pathophysiology and management. Siminars Liver Dis 1998;16:379-388.
19. Farooq V, Hegarty J, Lamerton EH, Mitra S. Serious adverse incidents with the usage of low molecular weight heparins in patients with chronic kidney disease. Am J Kidney Dis.2004, 43(3): 531-7.
20. Favre H, Martin Y, Stoermann C. Anticoagulation in continuous extracorporeal renal replacement therapy. Seminars Dial 1998;9: 112-118.
21. Gea RE, Barral Vinals N, Manso Mardones P. A contribuition safety on using low molecular weight heparin patients with renal failure. Farm Hosp. 2004 28(2): 101-5.
22. Guillet B, Simon N, Sampol JJ, Lorec-Penet AM. Pharmacokinetics of the low molecular weight heparin during 48 h after bolus administration as an anticoagulant in haemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 2003, 18(11): 2348-53.
23. Jeffrey RF, Khan AA, Douglas JT, Will EJ, Davison AM. Anticoagilation with low molecular weight heparin (fragmin) during continuous hemodialysis in the intensive care unit. Artif Organs 1998;17: 717-720
24. Kaplan AA. Continuous arteriovenous hemofiltration and related therapies. In Replacement of Renal Function by Dialysis (Eds) Jacobs C, Kjellstrand KE, Koch KM, Winchester JF, Kluwer Academic Publishers, Boston, 4th edition, p390-417.
25. Lile J. Low-molecular-weight heparin administration in patients with end-stage renal disease. Pharmacotherapy. 2001 21:1017
26. Lindhoff-Last E, Betz C, Bauersachs R. Use of a low-molecular-weight heparinoid (danaparoid sodium) for continuous renal replacement therapy in intensive care patients. Clin Appl hrom Hemost. 2001 7(4): 300-4.
27. Martin PY, Chevrolet JC, Suter P, Favre H. Anticoagulation in patients treated by continuous veno-venous hemofiltration: a retrospective study. AnJKidDis 1994;24:806-812
28. Mehta RL. Anticoagulation strategies for continuous renal replacement therapies: what works? AmJKidsDis 1998:28: Suppl 3, S8-S14.
29. Monagle P, Andrew M, Halton J, Marlar R, Vedh P. Homozygous protein C deficiency: description of a new mutation and successful treatment with low molecular weight heparin. Thromb Haemost. 1998 79(4): 756-61.
30. Morabito S, Guzzo I, Solazzo A, Muzi L, Luciani R, Pierucci A. CRRT: anticoagulation in critical ill at high risk of bleeding. J Nephrol. 2003 16(4): 566-71.
31. Moriniere Philippe, Bertrand de Cagny, Najen El Esper, Jean M. Achard. Antithrombotic management of the blood circuit in intermittent renal replacement therapy. Critical Car Nephrology 1998;1427-1439.
32. Paparella D., Tupputi Schinosa L. Management of coagulative disorders in the critically ill. Int Car Med 2000 26:1863-1866
33. Polkinghorne KR, McMahon LP, Becker GJ. Pharmacokinetic studies of dalteparin (Fragmin), enoxaparin (Clexane), and danaparoid sodium (Orgaran) in stable hemodialysis patients. Am J Kidney Dis. 2002 40(5): 990-5.
34. Schwab SJ, Onorato JJ, Dennis PA. Hemodialysis without anticoagulation. Am J Med, 1987; 83: 405-410.
35. Sieffert E, Mateo J, Deligeon N, Payen D. Continuous venovenous hemofiltration using heparin coated or non heparin coated membranes in critically ill patients. Proceds Continuous hemofiltration therapies Paris 1996, p14-15.
36. Smith D, Paganini EP, Suhoza K, Eisle G. Non-heparin continuous renal replacement therapy is possible. ISAO Press, 1986 pp. 226-230.
37. Tan H. K., Baldwin I, Bellomo R. Continuous veno-venous hemofiltration without anticoagulation in high-risk patients. Intensive car med. 2000 nov. 26(11): 1652-7.
38. Thorevska N, Sabahi R, Schiopescu I. Anticoagulation in hospitalized patients with renal insufficiency. Am College of Physicians. 2004, 125: 856-863.
39. Tuttle K. R., Worrall N. K., Lynn R. D. Predictors of acute renal failure after cardiac surgical procedures. Am. J. of Kidney Diseases. 2003 41:76-83.
40. Uchino S, Fealy N, Baldwin I. Contiuous venovenous hemofiltration without anticoagulation. ASAIO J. 2004 Jan-Feb; 50(1): 76-80.
41. Ward DM, Mehta RL. Extracorporeal management of acute renal failure patients at risk of high bleeding. Kid Int 1998; suppl 41: S237-S244.

Реперфузионные нарушения при критической ишемии тонкой кишки и их коррекция перфтораном

Д. А. Басараб

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, г. Москва, Российская Федерация

Reperfusion Disorders under Critical Ischemia of Small Interstine and Perftoran Therapy

D. A. Basarab

Research Institute on General Reanimatology of the RAMS, Moscow, Russia

The aim of the study was to compare protective effects of perfluorocarbon emulsion Perftoran during reperfusion in ischemic small intestine. Experiments were conducted on 146 nonlinear white male rats, weighed 200–350 g. Tourniquet strangulation of 5–6 cm jejunal loop and occlusion of the cranial mesenteric artery (CMA) were performed for 90 min. Perftoran (PF) (0.8–1.0 mL per 100 g) or 0.9% sodium chloride as a control were administrated at 75 min of ischemic period. Mean systemic arterial blood pressure (BPM) registration, morphological examination of ischemic intestine, vital microscopy of its mesentery and ultrasound dopplerography with an original system, arranged by miniature probe were performed.

BPM progressively decreased during 1.5 hours of reperfusion on 27.3±7.4% after PF administration vs. 38.6±8.0% in the control group of rats with intestinal loop ischemia (NS) and on 50.3±6.9% vs. 53.1±5.8%, respectively, in rats after global ischemia (NS). During the reperfusion period there were significant impairments of microcirculation: parts with restored blood flow alternate with leukocyte and erythrocyte stasis and intravascular clotting — classical «no-reflow» phenomenon. In this time, blood flow restoration after the end of 90 min of ischemia was clearly registered with dopplerography in large mesenteric arteries. The reduction of mesenteric 50-400μm «feeding arteries» diameter was significantly fewer in the PF group than in the control one (on 24±5.5% vs 45.2±3.6%, $p<0.05$) at 5th min after intestinal loop ischemia. This decrease progressed, but differences between groups minimized at 90th min of reperfusion (on 41.5±4.2% and 50.3±2.8%, respectively, NS). In reperfusion of rat's intestine a significant mucosal alteration was registered: villous height decreases in 2.5–3 times, quantity of crypts decreases more than in two times. In the group of rats with administrated PF intestinal mucosal layer protected from irreversible postischemic derangements during reperfusion. Saved crypts were the source of neoepithelization of renewing intestinal villi after 24 h of blood flow restoration.

We conclude that systemic administration of perftoran promotes to earlier and more complete mucosal regeneration during reperfusion period primarily due to its microcirculatory effects.

Ключевые слова: *крысы — ишемия — реперфузия — тонкая кишка — брыжейка — перфторуглеродные эмульсии — перфторан — биомикроскопия — микроциркуляция — невосстановление кровотока — питающие артерии — ультразвуковая допплеровская система.*

ВВЕДЕНИЕ

Механизмы развития и поиск методов борьбы с острыми расстройствами мезентериального кровообращения являются одними из самых сложных и, вместе с тем, недостаточно изученными проблемами в современной патологической физиологии, хирургии, трансплантологии и интенсивной терапии [11, 12, 16–18, 24]. Тем не менее, в течение последних 10–15 лет в мире был достигнут значительный прогресс в лечении реперфузионных нарушений, в том числе и с помощью кровезаменителей на основе эмульсий перфторуглеродов (ПФУЭ). Создание полифункционального препарата с газотранспортными свойствами — эмульсии «Перфторан» — было отмечено премией Правительства РФ в области науки и техники (*Белоярцев Ф. Ф., Иваницкий Г. Р., Воробьев С. И., Мороз В. В., Онищенко Н. А. и др.*, 1999 г.). Работы в этой области являются одним из приоритетных направлений научных медицинских исследований в РФ. Вместе с тем, число публикаций, посвященных вопросам использования ПФУЭ при острой ишемии кишечника сравнительно невелико и в большинстве работ освещаются вопросы местного применения ПФУЭ [5, 6, 22, 23, 25]. Только в небольшом числе исследований изучаются вопросы действия этих соединений на ишемизированную кишку после их введения в кровеносное русло [2, 9, 14].

Целью работы явилось изучение патофизиологических особенностей реперфузионных расстройств при критической ишемии тонкой кишки и возможности коррекции данной патологии системным введением ПФУЭ Перфторан.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 146 белых беспородных крысах-самцах массой от 200 до 350 г, наркотизированных нембуталом (ХФЗ, Таллинн, Эстония) в дозе 5–7 мг/100 г массы тела внутрибрюшинно. В ходе эксперимента крыса дышала атмосферным воздухом.

Общее количество животных было подразделено на 2 основных группы. У крыс первой группы (*n=110*) ишемию петли тощей кишки (длиной 5–6 см на расстоянии 15–30 см от аналога связки Трейца) создавали наложением на ее основание ущемляющего турникета длительностью 90 мин. Животным подгруппы IA (*n=48*) за 15 мин перед окончанием ишемии в кровоток вводили перфторан (ПФ) в объеме 1,0 мл/100 г массы тела. Крысам контрольной подгруппы IБ (*n=62*) в том же объеме и в те же сроки в кровоток вводился 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор, ФР). У крыс второй группы (*n=36*) глобальную ишемию тонкой кишки создавали путем полной окклюзии краниальной брыжеечной артерии (КБА) длительностью 90 мин. Животным подгруппы IIA (*n=22*) за 15 мин перед окончанием ишемии в кровоток вводили ПФ в объеме 1,0 мл/100 г массы тела. Крысам контрольной подгруппы IIБ (*n=14*) в том же объеме и в те же сроки в кровоток вводился ФР.

Регистрация АД. Для регистрации системного среднего артериального давления (АДСР) канюлировали хвостовую или бедренную артерии катетерами PE-10 и PE-50, соответственно. В кровоток вводили раствор гепарина из расчета 30 МЕ/100 г массы тела животного. Катетер соединяли с электроманометром Bentley Trantec and Statham P231D (Cobe Laboratories, Inc, США) или MPU-05-290-0-III (San-EI, Япония) и кривую АД регистрировали на самописце полиграфа Schwarzer (Picker International GmBH, Munchen, Германия) или 142-8 (San-EI, Япония), соответственно.

Биомикроскопия. После обработки операционного поля и срединной лапаротомии извлеченную петлю кишечника крысы помещали на прозрачный столик и покрывали прозрачной пленкой, предотвращающей высыхание ткани. Температуру животного и извлеченной петли поддерживали на уровне 36–37°С. Наблюдение за функционированием микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки проводилось в условиях проходящего света. Микроскоп МБИ-15 (ЛОМО, РФ) был снабжен фотокамерой Зенит-ЕТ и оригинальным устройством, позволяющим регистрировать диаметр микроскопируемых сосудов методом расщепления изображения [1]. Аналоговый сигнал, амплитуда которого была пропорциональна величине наружного диаметра сосуда, регистрировался на самописце полиграфа San-EI 142-8 параллельно кривой АД. Диаметр сосудов брыжейки регистрировали до наложения турникета и на протяжении 90 мин после окончания ишемии.

Для регистрации линейной скорости кровотока в «питающих» и, в ряде случаев, в более крупных «радиальных» артериях брыжейки тонкой кишки нами применен ультразвуковой допплеровский метод [7, 8]. Бандажный микродатчик размером 0,5 мм устанавливали на «радиальную» ветвь II-III порядка КБА, поверхностный — на «питающую» 50–400 мкм.

Гистологическое исследование. У крыс с сегментарной ишемией пробы ткани брали из зоны ишемии. У крыс с глобальной ишемией, учитывая значительную гетерогенность макроскопической картины ишемизированной кишки, пробы ткани брали из участков стенки кишки, различающихся по внешнему виду. Забор материала производили непосредственно перед окончанием ишемии, через 1,5 ч, а в хронических опытах — через 24 ч реперфузии.

Кусочки ткани фиксировали в 10% нейтральном формалине. На микротоме нарезали поперечные срезы тонкой кишки толщиной 4–6 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином, проводили ШИК-реакцию. Гистологическое исследование окрашенных препаратов было проведено на 243 срезах «слепым» методом. Для количественной оценки степени альтеративных морфологических изменений в слизистой тонкой кишки были применены критерии в виде 6-ступенчатой шкалы, предложенные *C. J. Chiu и соавт.* (1970) [15].

Статистическая обработка была проведена в программе Microsoft Excel-97 SR-2. Определяли среднее арифметическое (M), среднее квадратическое отклонение (SD) и стандартную ошибку среднего (m). Для оценки различий средних значений (M) использовали парный и непарный t-критерий. Значимость отличий считали достоверной при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Микроциркуляторные расстройства. Наложение турникета на основание петли тонкой кишки крысы приводило к полной остановке кровотока в циркуляторном русле кишечной стенки и соответствующего региона брыжейки, включая магистральные артерии, что подтверждалось ультразвуковым допплеровским методом (**рис. 1**). По ходу микрососудов в брыжейке появлялся вначале незначительный, а затем все более усиливающийся диапедез эритроцитов. Структура капилляр-

Рис. 1 Эффект наложения турникета на петлю тонкой кишки крысы и его снятия на динамику линейной скорости кровотока в сосудах брыжейки и на системное АД
1 – линейная скорость кровотока, регистрируемая поверхностным датчиком в «питающей» артерии брыжейки диаметром 110 мкм. В ходе 1,5-часовой ишемии («А»–«Б») датчик не был установлен. Стрелкой «В» указан момент восстановления регистрации линейной скорости кровотока в этом же сосуде
2 – линейная скорость кровотока, регистрируемая бандажным датчиком в «радиальной» артерии брыжейки диаметром 204 мкм. Местоположение датчика на протяжении всего эксперимента было неизменным
3 – давление крови в бедренной артерии крысы
«Г» – перерыв 90 минут (ишемии); «Д» – перерыв 5 минут (реперфузии)

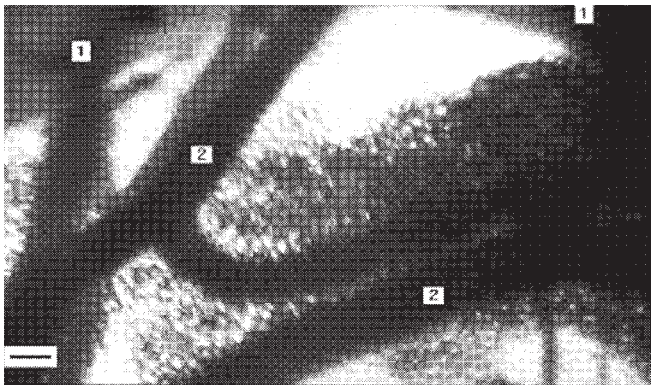


Рис. 2. Картина «питающих» артерий брыжйеки тонкой кишки крысы в условиях проходящего света: 1 – брыжеечный край кишечной стенки; 2 – «питающие» артерии. (Шкала – 100 мкм)

ной сети претерпевала значительные изменения. После снятия турникета в течение 1 мин кровоток возобновлялся, как правило, только в магистральных сосудах брыжейки (**рис. 1**) и в их разветвлениях, расположенных непосредственно у стенки кишки — так называемых «питающих» сосудах диаметром 100–400 мкм (**рис. 2**). В более мелких сосудах восстановление кровотока никогда не оказывалось полным, а имел место типичный феномен «невосстановления кровотока (no-reflow)»: участки с восстанавливающимся током крови чередовались с зонами нефункционирующих сосудов, заполненных эритроцитарными и лейкоцитарными агрегатами. Возникали геморрагии, покрывающие значительную площадь брыжейки. В реперфузионный период на фоне замедления скорости и увеличения числа «перекатывающихся» лейкоцитов усиливалась их адгезия к стенкам венул и возрастала степень общей агрегации форменных элементов в просвете микрососудов.

При полной окклюзии КБА (II группа) в некоторых крупных артериальных сосудах брыжейки в начале ишемической фазы наблюдалось лишь существенное замедление, но не полное прекращение кровотока, как это имело место при сегментарной турникетной ишемии. Однако, через 15–20 мин ток крови прекращался вплоть до окончания 1,5-часового периода ишемии. После снятия окклюдера с КБА кровоток возобновлялся по крупным артериям и венам, разделяющим «окна» брыжейки и по их разветвлениям около стенки кишки — «питающим» сосудам. В более мелких сосудах брыжейки на протяжении 90 мин реперфузии прогрессировал мозаичный феномен «no-reflow». В целом, реперфузионные нарушения брыжеечной микроциркуляции были одинаковы при обеих моделях, но следует отметить большую мозаичность расстройств у крыс II группы.

Динамика артериального давления. Уровень АД при 1,5-часовой сегментарной и глобальной ишемии и реперфузии представлен на **рис. 3А**. Следует отметить, что АД существенно не изменялось на протяжении ишемии. Реперфузия приводила к значительному (более 40% в случае глобальной интестинальной ишемии) и резкому падению АД уже на 5 мин реперфузии. Снижение АД отмечалось на протяжении 90 мин реперфузии.

Эффекты перфторана. Введение ПФ животным подгрупп IA и IIA (сегментарная и глобальная интестинальная ишемия) не оказывало заметного влияния на общую картину изменений в микроциркуляторном русле брыжейки, возникающих в реперфузионный период. Так же, как и при введении ФР, уровень системного АД значительно и прогрессивно снижался в период реперфузии (**рис. 3Б**). Как видно, изменения уровня АД в реперфузионный период на фоне введения в конце 1,5-часовой ишемии ПФ и ФР имели однонаправленный характер, причем различия между подгруппами IA и IБ, так же как и IIA и IIБ, не были выявлены.

Несмотря на тяжелые деструктивные изменения, имевшие место в микроциркуляторном русле тонкой кишки и ее брыжейки после длительной ишемии в начальный период реперфузии, кровоснабжение кишки восстанавливалось что,

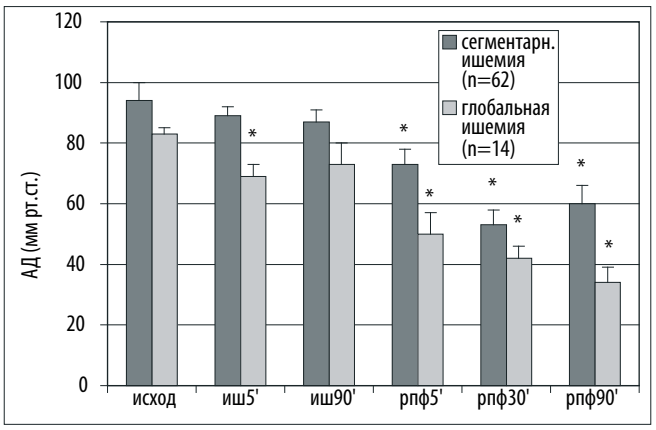


Рис. 3А. Системное АДСР оставалось стабильным на протяжении 90 мин интестинальной ишемии, но обнаруживало тенденцию к снижению в реперфузионном периоде. Более выраженное снижение АДСР в группе с окклюзией КБА. ФР (контроль). M±σ. * — p<0,05 относительно исходных в каждой группе; исход — исходные значения; иш — период ишемии, рпф — реперфузия

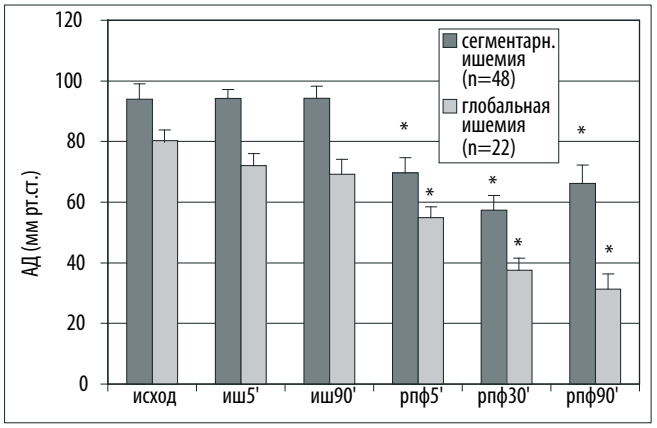


Рис. 3Б. Системное АДСР оставалось стабильным на протяжении 90 мин интестинальной ишемии, но также обнаруживало тенденцию к снижению в реперфузионном периоде. Более отчетливое снижение АДСР в группе с окклюзией КБА. Перфторан. M±σ. * — p<0,05 относительно исходных в каждой группе; исход — исходные значения; иш — период ишемии, рпф — реперфузия

подтверждалось регистрацией в магистральных мезентериальных сосудах эффекта Допплера ультразвуком (**рис.1**). Тем не менее, восстановление кровотока не было полным, поскольку диаметр «питающих» артерий в период реперфузии был значительно меньше относительно исходного. Было отмечено, что у 8 крыс подгруппы IA с введенным в конце 90 мин ишемии ПФ диаметр 19 артерий через 5 мин реперфузии был меньше исходного на 24±5,5%, тогда как у 6 крыс подгруппы 1Б (15 артерий) — на 45,2±3,6% (*p<0,05*, **рис. 4**). В последующем эти сдвиги продолжали нарастать, хотя межгрупповые отличия становились менее заметными. К 90 мин реперфузии отмечалось снижение диаметра на 41,5±4,2% от исходного в группе IA (*n=18*) и на 50,3±2,8% в группе IБ (*n=26*, NS).

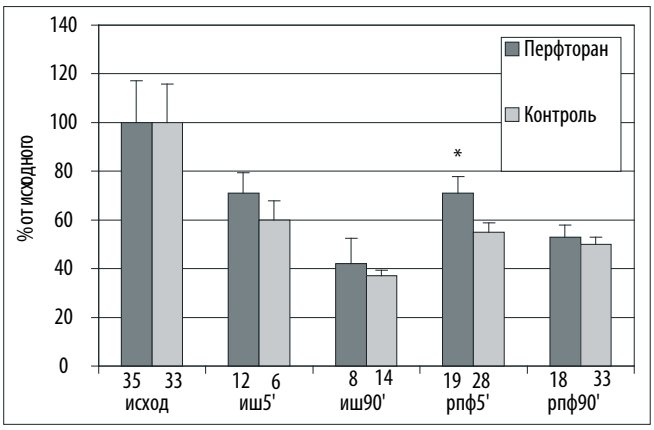


Рис. 4. Уменьшение диаметра «питающих» артерий брыжейки на протяжении 90 мин сегментарной интестинальной ишемии и в раннем реперфузионном периоде. Восстановление диаметра относительно исходных значений было более значимым в группе животных с введенным ПФ, чем в контроле. M±m. Цифры под столбцами соответствуют числу измеренных артерий в каждой группе крыс. * — p<0,05 относительно контрольной группы; исход — исходные значения; иш — период ишемии, рпф — реперфузия

У крыс подгруппы IIA (окклюзия КБА) реакция сосудов на восстановление кровотока была разнонаправленной: диаметр 15 артериол снижался на 10±2% по сравнению с исходными (до ишемии) значениями, а диаметр 10 артериол возрастал на 23±5%. Увеличение диаметра «питающих» артерий брыжейки при реперфузии было характерным для крыс с окклюзией КБА.

Гистологическое исследование. При гистологическом исследовании участков ткани кишки первой группы крыс, взятых в конце периода ишемии, отмечены лишь незначительные морфологические изменения структуры слизистой оболочки кишки в виде «лифтинга» и умеренного слущивания апикального эпителия в просвет кишки, а также незначительного отека верхушек ворсин. При снятии турникета и реперфузии сегмента тонкой кишки в течение 90 мин структурные повреждения слизистой оболочки тонкой кишки становились более значительными, чем в период ишемии. У крыс подгруппы IБ с введенным ФР процесс деструкции затрагивал крипты и обширные участки слизистой были практически полностью лишены эпителиального покрова. Ворсинчатая структура слизистой была значительно повреждена (**рис. 5А**). У крыс подгруппы IA через 90 мин реперфузии отмечалась лучшая сохранность структурных элементов слизистой оболочки. Эпителий большинства крипт был сохранен (**рис. 5Б**). Через 24 часа реперфузии деструктивные изменения прогрессировали, усиливалась интенсивность некробиотических процессов в слизистой оболочке кишки крыс

Таблица 1.

Данные морфометрии срезов тонкой кишки крыс, перенесших 1,5-часовую сегментарную турникетную ишемию тонкой кишки и реперфузию, (M±m)

Группы животных	Подгруппы (количество препаратов)	Морфометрические показатели			
		Высота слизист, мкм	Количество Крипт	Сохранность эпителия, %	Баллы по шкале Chiu
Интактные	(n=13)	497±25	143±16	100	0
Иш 90'/Рпф 0'	(n=8)	524±16	135±44	100	III
Иш 90'/ Рпф 90'	ПФ (n=5)	200±11*	66±16	63±18	IV
	ФР (n=5)	152±20	73±30	56±27	IV
Иш 90'/ Рпф 24ч	ПФ (n=8)	304±8*	77±27*	70±19*	II-III
	ФР (n=9)	168±28	27±33	17±20	IV-V

*Примечание: * — достоверные различия между опытной (ПФ) и контрольной (ФР) группами*

Таблица 2.

Данные морфометрии срезов тонкой кишки крыс, перенесших 1,5-часовую глобальную ишемию кишечника и реперфузию, (M±m)

Группы животных	Подгруппы (количество препаратов)	Морфометрические показатели			
		Высота слизистой, мкм	Количество крипт	Сохранность эпителия,%	Баллы по шкале Chiu
Интактные	(n=2)	525±19	125±24	100	0
Иш 90'/ Рпф 0'	ПФ (n=3)	326±28	129±12	100	III
	ФР (n=7)	312±18	104±13	90±10	III
Иш 90'/ Рпф 90'	ПФ (n=20)	296±9	118±9	97±3	III
	ФР (n=24)	285±9	107±6	91±4	III

Рис. 5А. Альтеративные изменения в тонкой кишке крысы спустя 90 мин после окончания сегментарной критической интестинальной ишемии. В период реперфузии отмечается практически полное слущивание эпителия и тяжелая деструкция ворсин: IV степень повреждения слизистой по C.J. Chiu. ФР (контроль). Гематоксилин-эозин. Увеличение х 80.

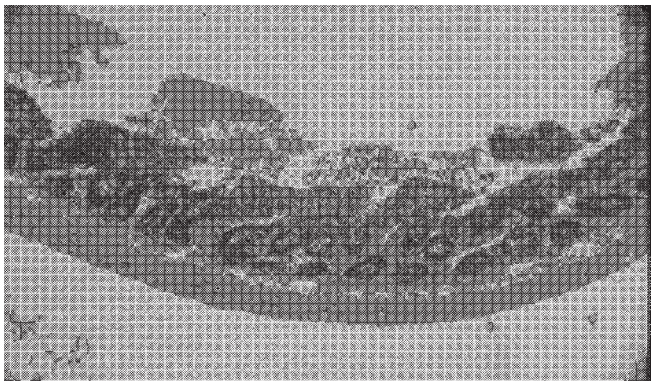


Рис. 5Б. Умеренные альтеративные изменения в тонкой кишке крысы спустя 90 мин после окончания сегментарной критической интестинальной ишемии. В период реперфузии отмечается практически полная сохранность крипт и основания ворсин: III степень повреждения слизистой по C.J. Chiu. ПФ. Гематоксилин-эозин. Увеличение х 80.

подгруппы IБ. Отмечались очаговые некрозы, распространяющиеся на все слои стенки тонкой кишки (**рис. 5В**). В то же время в группе животных IА (введение ПФ) отчетливо проявлялись признаки, свидетельствующие о процессе восстановления ворсинчатого строения слизистой оболочки и, в целом, регенерации эпителия (**рис. 5Г**, **5Д**). Результаты морфометрии гистологических препаратов тонкой кишки представлены в **таблице 1**.

При гистологическом исследовании ткани кишки крыс, подвергнутых окклюзии КБА и последующей реперфузии были выявлены особенности, характерные для модели глобальной ишемии кишечника. В конце 90 мин ишемии проявлялись первые признаки повреждения стенки кишки. На протяжении 1,5-часового периода реперфузии повреждения нарастали: у крыс подгрупп IIА и IIБ в стенке кишки отмечалась деструкция поверхностных слоев слизистой, появлялись массивные кровоизлияния и лейкоцитарная инфильтрация брыжейки и стенки кишки. В целом картина была более мозаичной в сравнении с гистологическими препаратами крыс группы I. Кроме того, в раннем реперфузионном периоде в результате выраженной интоксикации и прогрессирующих циркуляторных расстройств отмечалась гибель практически всех крыс, подвергшихся 90-минутной окклюзии КБА. Результаты морфометрии гистологических препаратов тонкой кишки крыс, подвергнутых глобальной ишемии, представлены в **таблице 2**.

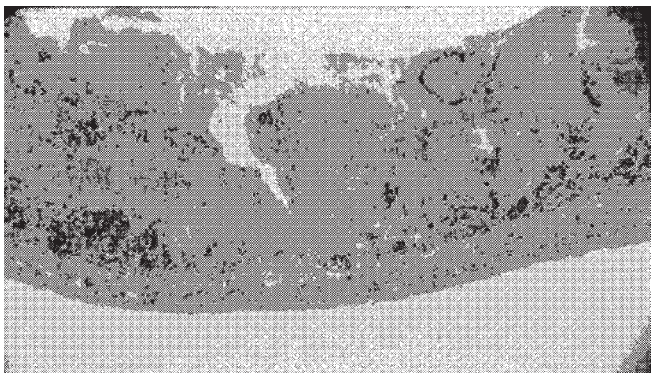


Рис. 5В. Тяжелая деструкция стенки с массивными кровоизлияниями и формированием фокусов трансмуральных инфарктов тонкой кишки крысы спустя 24 ч после окончания сегментарной критической интестинальной ишемии: V степень повреждения слизистой по C.J. Chiu. ФР (контроль). Гематоксилин-эозин. Увеличение х 80.

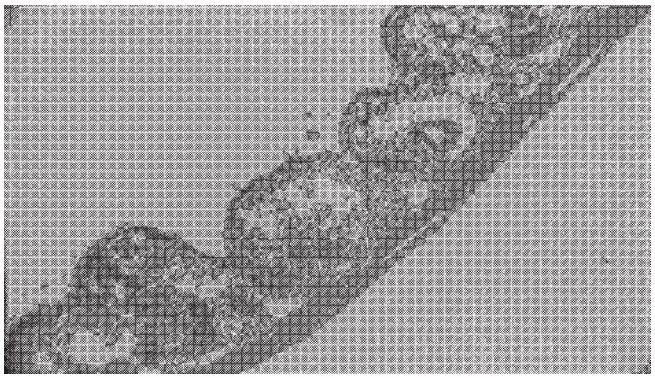


Рис. 5Г. Начальные признаки регенерации в тонкой кишке крысы спустя 24 ч после окончания сегментарной критической интестинальной ишемии. Отчетливо видна неоэпителизация остатков ворсин слизистой. ПФ. Гематоксилин-эозин. Увеличение х 80.

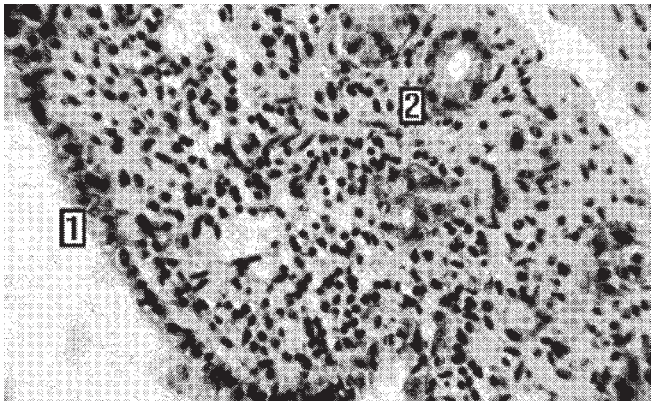


Рис. 5Д. Невысокие ворсины слизистой тонкой кишки крысы через сутки постишемического периода покрыты незрелым невысоким кубическим эпителием (1). ПФ. Гематоксилин-эозин. Увеличение х 400.

ОБСУЖДЕНИЕ

По мере расширения возможностей фармакологического и хирургического вмешательства в процессы ишемии, остро встает проблема постишемических, или реперфузионных, расстройств восстановления органного кровотока. Лечебные усилия в этом плане, в первую очередь, сконцентрированы на увеличении критического порога ишемии («point-of-no-return»), а также на уменьшении степени выраженности реперфузионных нарушений клеточного метаболизма и тканевой микроциркуляции [3, 4, 10, 13, 20]. Если в лечении ишемических повреждений в последние десятилетия были достигнуты значительные успехи, то проблема профилактики реперфузионных расстройств далека от своего окончательного решения и требует поиска не только путей коррекции, но и тщательного изучения механизмов развития этой патологии. В настоящем исследовании было проведено комплексное изучение общих закономерностей, особенностей, и основных механизмов реперфузионных нарушений при «критических сроках» сегментарной и глобальной ишемии тонкой кишки у крыс.

Для получения более однородного материала для анализа структурных и функциональных изменений, вызванных ишемией и реперфузией, в настоящем исследовании в качестве основной была выбрана модель турникетной ишемии сегмента тощей кишки. Данная модель воспроизводит состояние кишечника, имеющее место в клинической практике при ущемлении грыж и при других формах странгуляционной непроходимости, тогда как окклюзия КБА соответствует мезентериальному тромбозу или эмболии, обусловливающая более обширное, а, следовательно, и более неоднородную органную патологию.

Основываясь на полученных комплексных данных, было сделано заключение, что сроком критической ишемии тонкой кишки на сегментарной модели у крыс может служить срок 90 мин, после которого наступают уже необратимые последствия в виде значительных структурно-функциональных расстройств. Было показано, что при мониторировании АД проявлялась тенденция к стабилизации уровня давления крови во время ишемии и к значительному снижению давления в реперфузионном периоде. В опытах с глобальной интестинальной ишемией в сравнении с сегментарной ишемией такой же длительности наблюдалось закономерно более выраженное падение АД в ходе реперфузии

При гистологическом исследовании препаратов было выявлено, что с началом реперфузии степень деструктивных процессов в кишечной стенке начинала прогрессивно нарастать, затрагивая наиболее активный в функциональном плане слизистый слой. Альтеративные изменения в кишечной стенке достигали максимума к 1,5–2 часам реперф-

фузии. Вместе с тем, было обнаружено, что через сутки после ишемии сегмента тонкой кишки крысы, в препаратах, полученных от животных, которым в кровь вводился ПФ, можно различить явные признаки регенерации слизистого слоя, тогда как в контроле при реперфузии отмечается прогрессирование альтеративных расстройств, приводящих к некрозу кишечной стенки. В общем, при значительном уменьшении толщины слизистой и сглаживании рельефа вследствие отторжения значительной части ворсин, благодаря сохранению ростковых зон — крипт, люминальная поверхность была полностью или частично выстлана низким незрелым кубическим эпителием с признаками дифференцировки. Очевидно, что сохранность крипт является определяющим фактом в сохранении жизнеспособности ишемизированной кишки.

Результаты широко проводимых исследований, данные которых известны из литературных источников, позволили говорить о полифункциональных свойствах перфторуглеродных эмульсий (ПФУЭ). Стали появляться сообщения об эффективном применении ПФУЭ при заболеваниях и патологических процессах, имеющим в своей основе ишемические и постишемические расстройства. Вместе с тем, применение ПФУЭ в практике лечения реперфузионных расстройств кишечника крайне ограничено и механизмы их действия при данной патологии мало изучены.

Несмотря на тяжелые деструктивные изменения, имевшие место в микрососудистой сети брыжейки и кишечника крысы в период реперфузии, кровоснабжение кишки восстанавливалось, о чем свидетельствовало возобновление кровотока по «питающим» артериям, расположенным непосредственно у стенки тонкой кишки крысы. Тем не менее, восстановление кровотока не было полным, поскольку диаметр «питающих» артерий в период реперфузии был значительно меньше, чем до ишемии, а давление крови было значительно сниженным. В раннем реперфузионном периоде, на фоне примерно одинакового значительного (около 40%) снижения системного АД, у крыс, которым вводили ПФ перед снятием турникета, сохранялась более высокая проводимость «питающих» артерий.

При анализе механизмов защитного действия ПФ на слизистую оболочку кишечника следует иметь в виду полифункциональные свойства ПФУЭ. Они, например, могут оказывать мембраностабилизирующее воздействие на энтероциты в первоначальный период реперфузии, тем самым, предотвращая повреждение части из них и способствуя сохранению возможности к регенерации слизистого слоя кишечника в дальнейшем. Не исключено, что в процессе задействовано газотранспортное свойство ПФ в отношении оксида азота (NO). Из данных литературы известно, что NO оказывает защитное действие при реперфузионных повреждениях стенки кишечника у кошек [19]. Результаты другого исследования свидетельствуют о том, что частички эмульсии, циркулирующей в крови, могут быть обнаружены внутри эндотелиальных клеток кровеносных сосудов [21]. Можно предполагать, что ПФ взаимодействует с NO непосредственно в тканях органов. Применительно к тканям кишечной стенки, возможно, что ПФ, связываясь с NO, продуцируемым локально, может выступать в роли «депо-регулятора» NO и таким опосредованным способом оказывать защитное, протективное влияние на ткани кишечной стенки во время реперфузии.

Предположения о процессах взаимодействия ПФ и NO, по-видимому, применимы и к сосудам, питающим кровью кишечную стенку, расположенным в области ишемии. Возможно, что ПФ в роли «депо-регулятора» поддерживает дилататорный потенциал сосудистой стенки в условиях реперфузии, обеспечивая тем самым «лучшую сохранность» диаметра питающих артерий брыжейки при реперфузии с ПФ.

Очевидно, что приведенные соображения не охватывают всех возможных полифункциональных защитных свойств ПФУЭ. Но результаты проведенной работы дают веские основания для проведения дальнейших исследований в данном направлении, которое представляется весьма перспективным.

ВЫВОДЫ

1. На экспериментальных моделях сегментарной и глобальной ишемии тонкой кишки воспроизводятся основные функциональные и морфологические изменения, присущие патогенезу ишемических и реперфузионных расстройств в организме. Критическим для сегментарной турникетной ишемии тонкой кишки у крыс является срок 90 мин.
2. Реперфузия приводит к дизрегуляции систем поддержания давления крови: АДСР резко снижается уже в раннем реперфузионном периоде (на 20% и более) и продолжает падать в течение 1,5 ч реперфузии.

3. Основным патофизиологическим звеном в нарушении функции тонкой кишки при реперфузии является значительная деструкция слизистого слоя кишечной стенки. Степень альтеративных изменений в кишечной стенке пропорциональна длительности ишемии.
4. Перфторан, введенный в системный кровоток перед реперфузией, способствует сохранности росткового слоя, более раннему и полному восстановлению структур слизистой ишемизированной тонкой кишки крыс, что, возможно, обусловлено его влиянием на проводимость «питающих» артерий брыжейки диаметром 100–400 мкм.

Автор выражает глубокую признательность за содействие в проведении настоящего исследования чл.-корр. РАМН, д.м.н., проф. В. В. Морозу, д.м.н., проф. В. Л. Кожуре, д.м.н., проф. А. М. Голубеву (ГУ НИИ ОР РАМН), к.б.н. М. И. Тимкиной, к.т.н. Д. Д. Мациевскому и д.м.н., проф. П. Н. Александрову (ГУ НИИ ОППФ РАМН).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Александров П. Н., Чернух А. М. Применение метода расщепления изображения для прижизненной регистрации диаметра микрососудов//Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1972. — Т. 1. — С.35-85*
2. *Багненко С. Ф., Корольков А. Ю., Джусоев И. Г. Влияние перфторана на регенерацию межкишечных анастомозов, выполненных при геморрагическом шоке (эксперим. исслед.)//Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии: Сб. науч. тр./Под ред. Г. Р. Иваницкого, Е. Б. Жибурта, Е. И. Маевского. — Пущино, 2003. — С.151-154*
3. *Биленко М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). — М.: Медицина, 1989. — 368 с.*
4. *Власов Т. Д., Смирнов Д. А., Нутфуллина Г. М. Адаптация тонкой кишки крыс к ишемии.//Росс. физиол. журн. им. Сеченова. — 2001. — Т. 87, №. — С.118-124*
5. *Клигуненко Е. Н., Компаниец Н. Г. Возможности использование перфторана в комплексе антипаретической терапии при операциях на органах брюшной полости//Перфторорганические соединения в биологии и медицине: Сб. науч. тр./Под ред. Г. Р. Иваницкого и В. В. Мороза. — Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. — С.133-136*
6. *Мальцева Л. А., Мосенцев Н. Ф. Эффекты перфторана у септических больных; блокада генерализации цитокинового каскада как путь профилактики прогрессирования СПОН//Перфторорганические соединения в биологии и медицине: Сб. науч. тр./Под ред. Г. Р. Иваницкого и В. В. Мороза. — Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. — С.210-217*
7. *Мациевский Д. Д., Белкина Л. М., Толмачева Е. А. Динамика коронарного кровотока у крыс. Бюлл. Эксперим. Биол. 1992; 114(7): 19-22.*
8. *Мациевский Д. Д. Внутрисосудистые измерения кровотока на крысах. Бюлл. Эксперим. Биол. 1993; 116(8):144-147.*
9. *Мухамад Х. Т. Повышение жизнеспособности желудочного трансплантата при эзофагопластике с применением перфторана (экспериментально-клиническое исследование): Дис. ... канд. мед. наук. — Астрахань, 2000. — 88 с.*
10. *Ar'Rajab A., Davidson I., Fabia R. Reperfusion injury// New Horizons. — 1996. — Vol.4, №. — P.224-234*
11. *Betzler M. Chirurgisch-technische Leitlinien bei intestinaler Ischamie//Chirurg. — 1998. — Vol.69, №. — P.1-7*
12. *Bjorck M. Colonic ischemia after aortoiliac surgery// Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2002. — Т. 1, №. — С.10-16*
13. *Blaisdell F. W. The reperfusion syndrome//Microcirc. Endothelium Lymphatics. — 1989. — Vol.5, №- 5. — P.127-141*
14. *Chiu C. J., McArdle A. H., Brown R., Scott H. J., Gurd F. N. Intestinal mucosal lesions in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic and metabolic reapprisal//Arch. Surg. — 1970. — Vol.101. — P.478-483*
15. *Ghanekar A., Grant D. Small bowel transplantation// Curr. Opin. Crit. Care. — 2001. — Vol.7, №. — P.133-137*
16. *Grant D. Intestinal transplantation: 1997 report of the international registry. International transplant registry// Transplantation. — 1999. — Vol.67, N. 4. — P.1061-1064*
17. *Granger D. N. Ischemia-reperfusion: Mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease//Microcirculation. — 1999. — Vol.6. — P.167-178*
18. *Kubes P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role of nitric oxide.// Am. J. Physiol., 1993. — Vol. 264. — P. G143-G149*
19. *Lindsay T. F., Luo X. P., Lehotay D. C., et al. Ruptured abdominal aortic aneurysm, a «two-hit» ischemia/reperfusion injury: evidence from an analysis of oxidative products//J. Vasc. Surg. — 1999. — Vol.30, №. — P.219-228*
20. *Mathy-Hartert M., Krafft M. P., Deby C., Deby-Dupont G., Meurisse M., Lamy M., Riess J. G. Effects of perfluorocarbon emulsions on cultured human endothelial cells// Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. — 1997. — Vol.25, №. — P.563-575*
21. *O'Donnell K. A., Caty M. G., Zheng S., Rossman J. E., Azizkhan R. G. Oxygenated intraluminal perfluorocarbon protecrs intestinal mucosa from ischemia/reperfusion injury//J. Pediatr. Surg. — 1997. — Vol.32, №. — P.361-365*
22. *Ohara M., Unno N., Mitsuoka H., Kaneko H., Nakamura S. Peritoneal lavage with oxygenated perfluorochemical preserves intestinal mucosal barrier function after ischemia-reperfusion and ameliorates lung injury//Crit. Care. Med. — 2001. — Vol.29, №. — P.782-788*
23. *Parks D. A., Granger D. N., Bulkley G. B. Superoxide radicals and mucosal lesions in the ischemic small intestine// Fed. Proc. — 1982. — Vol.41. — P.1742-1746*
24. *Vejchapipat P., Proctor E., Ramsay A., Petros A., Gadian D. G., Spitz L., Pierro A. Intestinal energy metabolism after ischemia-reperfusion: Effects of moderate hypothermia and perfluorocarbons//J. Pediatr. Surg. — 2002. — Vol.37, №. — P.786-790*

Уважаемый коллега!

С 2004 года подписаться на журнал **«Тромбоз, гемостаз и реология»** возможно по каталогу **«Российский медицинский каталог»**.
Индекс для индивидуальных подписчиков — **3639**, индекс для организаций — **3640**.
Также Вы можете оформить прямую редакционную подписку на журнал **«Тромбоз, гемостаз и реология»** на 2006 год.
Для этого достаточно заполнить размещенный здесь бланк заказа и произвести оплату.
Стоимость подписки на все номера 2006 года (по одному экземпляру №№ 1–4) составляет 200 руб.

Заполните Доставочную карточку и пришлите вместе с квитанцией об оплате письмом по адресу:
Лаборатория экспресс-диагностики РНЦХ РАМН. Россия 119992 Москва, Абрикосовский пер., 2
Свой адрес пишите, пожалуйста, подробно и разборчиво.
В стоимость подписки включена доставка.

Подписка для организаций
Стоимость подписки для организаций составляет 3 000 руб.
Оплата подписки для организаций производится на основании счета. Для этого заполните Доставочную карточку и пришлите ее письмом по адресу:
Лаборатория экспресс-диагностики РНЦХ РАМН. Россия 119992 Москва, Абрикосовский пер., 2
В Доставочной карточке просим Вас подробно и разборчиво указать **1)** Название организации; **2)** Ф.И.О. контактного лица; **3)** номер факса организации, по которому будет выслана копия счета; и **4)** почтовый адрес организации, по которому будет выслан оригинал счета.
При подписке на меньшее число номеров журнала за 2005 год, стоимость одного экземпляра составляет 200 руб.
В стоимость подписки включена доставка.

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

	пв	место	литер	ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА НА ЖУРНАЛ ПИ № 779636
				«Тромбоз, гемостаз и реология»
				ПОДПИСКА на 2006 год

Куда	Индекс, адрес
Кому	Фамилия, инициалы
Оплата 200 руб. произведена	Дата

РЕДАКЦИОННАЯ ПОДПИСКА

Извещение

ООО «Гемостаз и реология»
получатель платежа

ИНН получателя платежа 7714216791
расчетный счет № 40702810600010000962
в ОАО «Банк Москвы», г.Москва
кор. счет № 30101810500000000219
БИК 044525219

Вид платежа	Сумма
Подписка на «Тромбоз, гемостаз и реология» на 2006 г.	
Всего	

Дата _____ Плательщик _____

Кассир

Квитанция

ООО «Гемостаз и реология»
получатель платежа

ИНН получателя платежа 7714216791
расчетный счет № 40702810600010000962
в ОАО «Банк Москвы», г.Москва
кор. счет № 30101810500000000219
БИК 044525219

Вид платежа	Сумма
Подписка на «Тромбоз, гемостаз и реология» на 2006 г.	
Всего	

Дата _____ Плательщик _____

Кассир

Уважаемый коллега!

С СЕНТЯБРЯ 2003 года журнал «Тромбоз, гемостаз и реология»

РЕФЕРИРУЕТСЯ

Всероссийским Институтом Научной и Технической Информации (ВИНИТИ)

Журнал внесен в отечественные и зарубежные базы данных, что увеличивает цитируемость статей и индекс цитируемости их авторов.

Ждем Ваших публикаций!

Редакция.

РЕДАКЦИОННАЯ ПОДПИСКА

Информация о плательщике

(Ф.И.О., адрес плательщика)

(ИНН)

Информация о плательщике

(Ф.И.О., адрес плательщика)

(ИНН)